

*SANDRA DE CÁSSIA SANTANA SARDINHA*

*Cirurgiã-Dentista*

**BC**

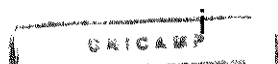
*EFEITO DE TRÊS DIFERENTES TIPOS DE  
SUBSTITUTOS ÓSSEOS SOBRE A  
OSSEOINTEGRAÇÃO PRIMÁRIA DE IMPLANTES  
ENDÓSSEOS. AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA  
EM TÍBIAS DE COELHOS.*

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba - Universidade Estadual de Campinas, como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre em Clínica Odontológica, Área de Cirurgia.

*Piracicaba - SP*

*2001*

2016815



**SANDRA DE CÁSSIA SANTANA SARDINHA**

Cirurgiã-Dentista

**EFEITO DE TRÊS DIFERENTES TIPOS DE  
SUBSTITUTOS ÓSSEOS SOBRE A  
OSSEOINTEGRAÇÃO PRIMÁRIA DE IMPLANTES  
ENDÓSSEOS. AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA  
EM TÍBIAS DE COELHOS.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba – Universidade Estadual de Campinas, como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre em Clínica Odontológica, Área de Cirurgia.

*Banca examinadora:* Prof. Dr. Renato Mazzonetto (orientador)

(FOP – UNICAMP)

Prof. Dr. Luis Augusto Passeri

Prof. Dr. João Batista Miranda

Este exemplar foi devidamente corrigido,  
de acordo com a Resolução CCPG-036/83  
CPG, 17/05/2001



Assinatura do Orientador

Piracicaba – SP

2001

Ficha Catalográfica

Sa72e Sardinha, Sandra de Cássia Santana.  
Efeito de três diferentes tipos de substitutos ósseos sobre a osseointegração primária de implantes endósseos. Avaliação histológica em tíbias de coelhos. / Sandra de Cássia Santana Sardinha. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2001.  
xx, 102p. : il.

Orientador : Prof. Dr. Renato Mazzonetto.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Ossos – Enxerto. 2. Implantes dentários endoósseos. 3. Coelho. 4. Tíbia – Cirurgia. I. Mazzonetto, Renato. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marilene Girello CRB/8-6159, da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA  
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de MESTRADO, em sessão pública realizada em 06 de Fevereiro de 2001, considerou o candidato SANDRA DE CÁSSIA SANTANA SARDINHA aprovado.

1. Prof. Dr. RENATO MAZZONETTO

Handwritten signature of Renato Mazzonetto in black ink.

2. Prof. Dr. JOÃO BATISTA MIRANDA

Handwritten signature of João Batista Miranda in black ink.

3. Prof. Dr. LUIS AUGUSTO PASSERI

Handwritten signature of Luis Augusto Passeri in black ink.

## DEDICATÓRIA

*À minha querida mãe,*

*Todas as coisas que tenho construído e alcançado tiveram um alicerce muito especial: a sua participação e incentivo sempre presentes foram essenciais ao meu crescimento pessoal e profissional.*

*Aos meus irmãos,*

*Cris, Gel, Lui e Lesse, este trabalho não seria o mesmo se não fosse a presença constante e o amor de vocês.*

*Ao meu marido,*

*Tony, a você carinhosamente dedico esta conquista. O seu companheirismo e o imenso amor têm me colocado mais próximo de Deus e isto torna fácil atingir degraus sempre mais altos.*

*A Jessica,*

*Ainda tão pequenina e em tão pouco tempo nos trouxe imenso amor e união.*

## AGRADECIMENTO ESPECIAL

*À DEUS, pela excelência da vida,  
por se fazer presente em todos os  
momentos da minha vida.*

## AGRADECIMENTO ESPECIAL

*Ao Prof. Dr. Roger William Fernandes  
Moreira, pela preciosa ajuda na realização  
deste trabalho e pelo incentivo,  
mostrando-me que sempre há esperança  
quando o objetivo é vencer as maiores  
batalhas.*

## AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

*Ao Prof. Dr. Renato Mazzonetto, pela orientação deste trabalho e simplicidade com que transmite grandes ensinamentos.*

*Ao Prof. Dr. Luis Augusto Passeri, por acreditar nos meus propósitos, por seu profissionalismo e capacidade de liderança.*

*Ao Prof. Dr. Márcio de Moraes, por seu exemplo de integridade e forma com que conduz a transmissão de seus conhecimentos.*

*Ao Prof. Dr. José Ricardo de Albergaria Barbosa, pela imprescindível ajuda na análise histológica.*



## AGRADECIMENTOS

*À Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, pela estrutura oferecida para realização desta etapa da minha formação profissional.*

*À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo auxílio financeiro indispensável ao desenvolvimento das atividades experimentais desta obra.*

*Ao INP – Sistema Nacional de Implantes Nacionais e de Próteses Comércio Ltda, em do Cirurgião-Dentista José Tadeu Tesseroli de Siqueira, pela atenção disponibilizada e pelos implantes cedidos para a realização deste estudo.*

*Ao Prof. Dr. Pedro Duarte Novaes, pela disponibilidade e atenção durante a análise histológica e fotografia das lâminas.*

*Aos professores da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia, pela minha formação profissional, em especial à professora Cícely Fontes.*

*Ao Professor e Mestre, Roberto de Almeida Azevedo, por fazer parte da minha iniciação na área de Cirurgia Buco-Maxilo-Facial.*

*Aos amigos da pós-graduação, Liliane, Adriano, Alessandro, Aleysson, Luis Rabêlo, Eider, Laureano, Alexandre, Robson, Fernando, Valfrido Filho, pelo companheirismo em todos os momentos.*

*Ao amigo Prof. José Flávio Ribeiro Torezan pela indispensável ajuda na parte experimental deste trabalho pelo e incentivo.*

*Aos grandes amigos: Silvana Santana, Humberto de Santana Júnior, Rose Perez, Davi Perez, Suzana Garcia, Eloi Garcia, Vera Lúcia de Santana, Viviane Maia e Ana Carolina Motta, pela fidelidade neste imenso sentimento de amizade.*

*Às minhas queridas tias: Dalva Macedo e Maria Macedo, pelo carinho e dedicação de sempre.*

*Às funcionárias do centro cirúrgico da Faculdade de Odontologia de Piracicaba-Unicamp, Sueli Cristina Scarassatti Teixeira da Cruz e Edilane Cristina Mendes Felipe , pela ajuda diária no andamento das cirurgias e atendimento a pacientes.*

*Às Sras. Ivani Odas Demétrio e Maria Aparecida Santiago Virella, técnicas do laboratório de histologia desta Faculdade, pelo auxílio no processamento histológico de algumas peças utilizadas neste trabalho.*

*“Ainda que eu falasse as línguas dos homens e dos anjos,  
e não tivesse amor, seria como o metal que soa ou como o  
sino que tine.”*

*Cor.13:1*

# **SUMÁRIO**

<b>RESUMO.....</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>3</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>5</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>11</b>
2.1 Aspectos histológicos da osseointegração.....	12
2.2 Materiais para implante.....	18
2.3 Substitutos ósseos.....	23
2.3.1 Enxertos autógenos.....	23
2.3.2 Enxertos homogêneos.....	26
2.3.3 Enxertos heterógenos.....	31
2.3.4 Materiais aloplásticos.....	32
<b>3. PROPOSIÇÃO.....</b>	<b>37</b>

<b>4. METODOLOGIA.....</b>	<b>39</b>
4.1 Implante utilizado.....	39
4.2 Animais e anestesia.....	40
4.3 Cirurgia experimental.....	42
4.4 Sacrifício dos animais e estudo histológico.....	46
 <b>5. RESULTADOS.....</b>	 <b>55</b>
5.1 Análise histológica.....	56
5.1.1 Grupo controle: implante e coágulo sangüíneo.....	56
5.1.2 Grupo com osso humano desmineralizado e sulfato de cálcio.....	58
5.1.3 Grupo com polímero de mamona.....	61
5.1.4 Grupo com sulfato de cálcio.....	64
 <b>6. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....</b>	 <b>77</b>
 <b>7. CONCLUSÕES.....</b>	 <b>87</b>
 <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	 <b>89</b>
 <b>APÊNDICE.....</b>	 <b>101</b>

## **RESUMO**

Este trabalho teve como objetivo analisar histologicamente o comportamento do polímero de mamona, do osso humano desmineralizado e do sulfato de cálcio associados a implantes de titânio comercialmente puro, com 2,6 mm de diâmetro e 6 mm de comprimento. Os experimentos foram realizados em ambas as tíbias de 10 coelhos da raça Nova Zelândia, com idade variando entre 6 e 8 meses e peso médio de 3,9 kg. Nas perfurações realizadas em cada tíbia foram colocados o material e o implante, sendo que na perfuração proximal da tíbia direita o implante permaneceu envolvido apenas por sangue, que serviu como controle. Após o período de 12 semanas os animais foram sacrificados e blocos ósseos contendo os implantes, foram fixados, descalcificados e processados para posterior análise histológica em microscopia óptica comum. Os resultados mostraram neoformação óssea e vascular, sem a presença de reação inflamatória do tipo corpo estranho em todos os grupos estudados, não havendo diferenças teciduais locais entre os mesmos.

**Palavras-chave:** Enxerto, Implantes dentários endoósseos, Coelho, Tíbia.

## **ABSTRACT**

The prupose of this study was to evaluate the histologic behavior of castor plant oil polymer, demineralized lyophilized human bone, and calcium sulfate when associated with a commercially pure titanium implant. Ten *New Zealand* rabbits were utilized in this study. The animal age ranged from 6 and 8 months and the mean weight was 3,9kg. Perforations of 2,6mm of diameter and 6mm of depth were drilled in both tibia of each rabbit. The left proximal and distal, and right distal tibia perforations were filled with castor plant oil polymer, demineralized lyophilized human bone and calcium sulfate, respectively. Each material was combined with a commercially pure titanium implant. The right proximal tibia perforation was filled with commercially pure titanium implant and blood clot to serve as a control group. After a 12 weeks, the rabbits were sacrificed and paraffin blocks of each specime were histologically analyzed. The results showed that all three materials evaluated did not impede appropriate angionesis and osteogenesis. In addition, there was no histologic evidence of foreign body reaction in any of the implant sites. We ca conclud that there was no difference among all groups with respect to the interference with angiogenesis and osteogenesis. Furthermore, there was no histologic evidence of rejection of the three materials studied.

## **1. INTRODUÇÃO**

A reposição de elementos dentais perdidos, utilizando-se implantes dentários endósseos de titânio, está bem documentado na literatura (BRÅNEMARK *et al.*, 1981; ALBREKTSSON *et al.*, 1987; DOUNDOULAKIS, 1987).

O sucesso em longo prazo dos implantes endósseos baseia-se em vários fatores, dentre eles a utilização de materiais biocompatíveis com superfícies livres de contaminantes, a utilização de uma técnica cirúrgica atraumática, o estabelecimento de um correto planejamento e o adequado preparo do paciente para receber este tipo de tratamento.

A função do implante depende essencialmente da manutenção da osseointegração, que se constitui na íntima relação de contato do osso com a superfície o material implantado (BRÅNEMARK *et al.*, 1977). Esta definição é baseada em critérios histológicos, enquanto ZARB & ALBREKTSSON (1991), sugeriram um novo conceito afirmando que osseointegração é o processo pelo qual a fixação rígida e assintomática de um material aloplástico no osso é obtida e mantida durante a função.



ALBREKTSSON *et al.*, em 1986, elaboraram critérios de sucesso para os implantes dentários, dentre os quais citaram que o implante deveria permanecer imóvel quando testado clinicamente; o exame radiográfico não deveria mostrar evidências de radiolucidez perimplantar; a perda óssea vertical ao redor do implante deveria ser menor que 0,2mm anualmente, após o primeiro ano; devem estar ausentes sinais e sintomas persistentes e ou irreversíveis como dor, infecção, neuropatias, ou violação do canal mandibular. O índice de sucesso deve ser de 85% ao final de cinco anos e de 80% ao final de dez anos de observação.

ALBREKTSSON *et al.* em 1981, afirmaram que as reações existentes entre o implante e o tecido ósseo são influenciadas pela técnica cirúrgica, estado de saúde do leito receptor, desenho do implante, condições de carga transmitida ao implante e pelo tipo de superfície do material a ser implantado. Além disso, BRÅNEMARK *et al.*, 1985, SATOMI *et al.*, 1988 e KOHN, 1992, concluíram que a estabilidade inicial do implante e um período de reparo livre de cargas são fundamentais no processo de osseointegração.

A resposta do organismo a um determinado material de implante pode variar de uma leve reação inflamatória até uma inflamação crônica,

sendo que o grau de resposta biológica depende quase exclusivamente do material implantado (COOK & DALTON,1992).

Através de estudo realizado por microscopia ótica e eletrônica usando implantes comerciais em mandíbulas de cães, SISK *et al.*,1992, afirmaram que a osseointegração inicial parece não depender tanto do desenho e do fato do implante estar submerso, mas sofre maior influência da biocompatibilidade que o material apresenta e do emprego de uma técnica cirúrgica atraumática.

No planejamento cirúrgico, faz-se necessário avaliar se o tecido ósseo oferece condições estruturais e biológicas de receber o implante. Nos casos onde há deficiência de estrutura óssea para a colocação dos implantes endósseos, pode-se utilizar substitutos ósseos com a finalidade de proporcionar condições locais adequadas para o procedimento cirúrgico de aplicação do implante. Os implantes aloplásticos são substâncias que têm sido largamente empregadas como substitutos ósseos ou reparadores de defeitos que impossibilitem a colocação do implante (BOYNE,1997; LOW *et al.*,1997; NEWMAN *et al.*, 1997).

Materiais à base de fosfato de cálcio como a hidroxiapatita, têm servido como base para uma variedade de implantes dentários,

maxilofaciais e ortopédicos. RICCI *et al.*, 1992, concluíram que hidroxiapatita é um material biocompatível e osteocondutor.

Outros materiais, como o polímero poliuretano de mamona (*Ricinus communis*), têm sido estudados como alternativas para reparação óssea tecidual. OHARA *et al.*, em 1995, analisaram a biocompatibilidade deste material através de estudos em coelhos e concluíram que a resina de mamona não é tóxica e, quando implantada no osso evolui para neoformação óssea.

CONNER, em 1996, avaliando o uso de enxerto ósseo com uma membrana de sulfato de cálcio após amputações radiculares, concluiu que o sulfato de cálcio usado como barreira celular sobre osso humano congelado e desmineralizado é um bom mecanismo para se obter regeneração óssea tecidual.

As cerâmicas bioativas são materiais aloplásticos que demonstram considerável capacidade de reparação óssea e biocompatibilidade tecidual. Quando em contato com o osso estes materiais formam uma camada de gel rica em sílica que se adere ao tecido ósseo, servindo como fator indutor de osteogênese (LOW *et al.*, 1997).

Vidros bioativos têm sido apresentados para aderir ao osso e ao tecido mole. Esses materiais diferem de outras cerâmicas bioativas em que o grau de adesão ao osso pode ser controlado por variáveis na sua composição química (NEWMAN *et al.*, 1997).

MARINAK *et al.*, em 1989, avaliaram o potencial osteogênico de duas preparações de osso humano desmineralizado, em ratos, onde verificaram, através de análise histomorfométrica, que houve baixa produção óssea em resposta ao material estudado. O potencial de transmissão de doenças infecto-contagiosas, nos casos de enxertos homogêneos, tem estimulado a pesquisa de anticorpos do vírus da imunodeficiência humana em amostras obtidas de indivíduos infectados. Nos estudos realizados por CARLSSON *et al.*, em 1994, os autores recomendaram o uso de um banco de tecidos que apresente um protocolo para seleção do doador e para o processamento laboratorial do enxerto.

BLOCK *et al.*, em 1997 após utilizar osso autógeno para aumento da altura óssea na região posterior da maxila, observaram que o enxerto ósseo ideal deveria apresentar os seguintes critérios: habilidade para produzir osso pela proliferação celular de osteoblastos viáveis transplantados ou por osteocondução de células ao longo da superfície do

enxerto, remodelação de osso inicialmente formado dentro do osso lamelar imaturo, habilidade para estabilizar implantes quando colocados simultaneamente com o enxerto, baixo risco de infecção, facilmente disponível; manutenção da maturação óssea sem perda da função, baixa antigenicidade e alto índice de reabilitação.

Atualmente, não foram encontrados substitutos ósseos que apresentem as vantagens do osso autógeno, em qualidade e quantidade suficientes para serem usados nos diversos casos de reabilitação de defeitos ósseos.

Diversos experimentos *in vitro* e *in vivo* têm sido realizados na incansável busca se obter substâncias que apresentem as características do enxerto ósseo autógeno forneçam células osteocompetentes, diminuam a possibilidade de transmissão de doenças infecto-contagiosas, possam ser adquiridas em grandes quantidades e permitam que ocorra o processo natural de reparo.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

Através da história da humanidade, várias substâncias obtidas natural ou sinteticamente, têm sido utilizadas na tentativa de restaurar ou restabelecer a forma e a função de órgãos perdidos por traumatismos ou através de processos patológicos. Materiais como madeira, marfim, osso seco, fios de ouro, ligas de prata, além de outras substâncias, foram utilizadas por várias civilizações ao longo dos séculos, com estas finalidades. Mas, foi a partir do desenvolvimento tecnológico e científico, que a descoberta de substâncias capazes de substituir tecidos ou órgãos perdidos, assim como de estimular a regeneração tecidual, tem alcançado grandes avanços.

A partir dos últimos 30 anos muitas pesquisas foram direcionadas ao estudo do uso do titânio como material para implante. Através dos trabalhos iniciais apresentados por BRÅNEMARK *et al.* em 1969, pôde-se dar maior atenção às grandes diferenças entre os índices de sucesso clínicos obtidos com a utilização dos implantes de titânio. A osseointegração, definida como a íntima relação de contato do osso com a

superfície do implante (BRÅ/NEMARK *et al.*, 1977), tem sido considerada a grande responsável pela eficácia dos tratamentos propostos.

Posteriormente, o conceito de osseointegração foi alterado por ZARB & ALBREKTSSON, em 1991, ao sugerirem que a osseointegração seria o processo pelo qual a fixação rígida e assintomática de um implante aloplástico é obtida e mantida durante a função, sob microscopia óptica. Este novo conceito tem se mantido nos dias atuais.

## **2.1. ASPECTOS HISTOLÓGICOS DA OSSEOINTEGRAÇÃO**

O tecido ósseo humano consiste, quimicamente, em cerca de 65% de minerais, 25% de matriz orgânica e 10% de água. O colágeno representa cerca de 90% da fase orgânica, sendo os 10% restantes, composto de proteoglicanos e proteínas não colágenas. Os osteoblastos são as células formadoras da matriz osteóide, que irão mineralizar-se posteriormente. Qualquer lesão óssea ativa o processo de regeneração local pela liberação de fatores de crescimento e de indutores (BUSER *et al.*, 1996). Desta forma, qualquer alteração fisiológica ou morfológica do tecido ósseo, irá agir como fator desfavorável ao processo de reparo ósseo.

Os autores afirmaram que as investigações dos aspectos teciduais locais, devem ser realizadas antes do procedimento cirúrgico.

Posteriormente, foi observado que os critérios para definir osseointegração não deveriam ser baseados em aspectos histológicos. A osseointegração deve ser observada quando há evidência de ausência de tecido fibroso entre o implante e o tecido ósseo e verifica-se integração entre o material implantado e o osso, sem a reação típica de corpo estranho (MEFFERT *et al.*, 1992).

O conceito de osseointegração apresentado como processo pelo qual a fixação rígida e assintomática de um determinado material aloplástico no osso é obtida e mantida durante a função, foi descrito por ZARB e ALBREKTSSON, em 1991.

Os aspectos físicos e biológicos envolvidos na superfície dos implantes de titânio e o tecido ósseo, foram analisadas por ALBREKTSSON *et al.*, 1983. Nessa investigação, os autores observaram a camada de compostos químicos que recobre um implante de titânio e que permite a atuação das células ósseas locais. Esta camada superficial de óxidos torna



o titânio um material biocompatível levando à formação óssea em toda à superfície do metal.

Há evidências de que não existe apenas um único parâmetro para determinar a biocompatibilidade de implantes de titânio. Um implante deve estar envolvido por tecido ósseo em quantidade e qualidade suficientes para permanecer osseointegrado, considerando um determinado período.

LINDER *et al.*, em 1983, realizaram trabalhos de investigação da zona envolvendo o implante e o tecido ósseo adjacente. Eles utilizaram 10 implantes cilíndricos feitos de polycarbonato, recobertos por uma camada com 120-250nm de espessura de titânio puro e inseridos nas tíbias de 5 coelhos. O período de observação foi de 12 semanas e uma análise realizada através de microscopia eletrônica, revelou tecido ósseo maduro na superfície do implante, sem interposição de tecidos moles em todos os pontos analisados. A microscopia eletrônica de alta resolução foi usada por LINDER *et al.*, em 1985, como meio para analisar a interface do implante com o tecido ósseo. Eles descreveram um método que permitia, através do uso da resina epóxica, analisar os tecidos ao redor dos implantes. Este método mostrou-se adequado para a realização de estudos clínicos e

laboratoriais, podendo ser usado na avaliação da biocompatibilidade e da ultraestrutura dos materiais de implante.

Vários trabalhos realizados com a finalidade de se investigar os materiais para implantes e os diversos tipos de substitutos ósseos, são freqüentemente realizados em animais de laboratório. FRAME, em 1980, descreveu um animal modelo que oferecesse os requisitos necessários para ser utilizado como cobaia . Este autor, com base em estudos radiográficos e histológicos, concluiu que o animal ideal usado para investigar substitutos ósseos é o coelho, principalmente na região de calota craniana.

Uma avaliação das variáveis que influenciam a direção de aposição óssea na superfície de implantes, foi realizada por THOMAS & COOK, em 1985. As variáveis analisadas neste estudo incluíram módulo de elasticidade, textura superficial e composição da superfície dos materiais. Doze tipos de implantes foram pesquisados, após a inserção no fêmur de cães, por um período de 32 semanas. Os estudos mostram que a direção de aposição óssea foi afetada pelos fatores estudados, onde as superfícies

rugosas levaram à maior deposição óssea sobre o implante, em relação às superfícies lisas.

ALBREKTSSON & JACBSSON, em 1987, afirmaram que fatores como biocompatibilidade do material, desenho do implante, microestrutura superficial, estado do leito receptor e as condições das cargas mastigatórias, determinam a manutenção da osseointegração.

A estrutura da superfície do implante e a sua interação tecidual foram analisadas por BAIER *et al.*, em 1984. Esse estudo avaliou as características da interface de biomateriais à base de cerâmica, implantados na intraderme do dorso de coelhos. A superfície dos implantes foi tratada por descarga incandescente. Os resultados indicaram que este sistema de esterilização causa deposição de substâncias orgânicas, alterando o contorno e os efeitos biológicos dos implantes.

A análise da topografia da superfície dos implantes, após procedimentos de tratamentos prévios, também foi feita por SMITH *et al.*, em 1991, onde foram utilizadas liga de Ti6Al4V, Co-Cr-Mo, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e hidroxiapatita sintética. Esses materiais foram submetidos a limpeza

detergente, autoclavagem, radiação, ataque ácido ou através de plasma *spray*. Os resultados mostraram diferença significativa na energia e morfologia de superfície dos materiais pesquisados.

STEFLIK *et al.*, em 1993, estudaram, através de análise comparativa, o epitélio, o tecido conjuntivo e o tecido ósseo presente na superfície de implantes endósseos. Os aspectos clínicos e radiográficos foram considerados e o exame histológico foi realizado por meio de microscopia eletrônica de alta resolução e microscopia eletrônica de varredura. Neste trabalho, foram utilizados 120 implantes de titânio e de cerâmica inseridos na mandíbula de 30 cães. Os resultados mostraram que os tecidos moles sofreram um processo normal de cicatrização, os osteoblastos e osteócitos mostraram-se associados à superfície dos implantes, indicando que a mineralização óssea apresentava-se conforme o processo de maturação mandibular normal.

Fatores que vão desde a técnica de fabricação dos implantes, às características físicas e químicas do material utilizado, as condições operatórias, experiência profissional até o aspecto da região receptora, que deve apresentar quantidade e qualidade óssea adequadas para receber o

implante, são essenciais na determinação do sucesso do tratamento implantodôntico proposto.

## **2.2. MATERIAIS PARA IMPLANTE**

Nos casos onde há deficiência de estrutura óssea ou limitações anatômicas que impossibilitem a colocação dos implantes endósseos, pode-se utilizar substitutos com a finalidade de proporcionar condições locais adequadas ao planejamento implantodôntico. As propriedades químicas e físicas das substâncias empregadas na implantodontia, assim como as características da superfície dos implantes e as condições do leito receptor, têm íntima relação com o prognóstico do implante (ALBREKTSSON *et al.*, 1981).

Os biomateriais mais freqüentemente utilizados para implantes dentais são os metais e sua ligas. O titânio comercialmente puro e as ligas de titânio-alumínio-vanádio (Ti-6Al-4V), são alguns dos produtos mais extensivamente usados para implantes endósseos. Ligas do tipo cromo-cobalto-molibidênio, são mais aplicadas para implantes subperiosteais (COOK & DALTON, 1992).

As ligas de titânio e o titânio comercialmente puro são materiais que apresentam alta biocompatibilidade, principalmente em função da camada de óxidos, formada na superfície do metal ao entrar em contato com o ar. Esta camada proporciona uma alta estabilidade química, evitando que ocorra oxidação progressiva do metal. Quando há contaminação da superfície do implante de titânio, pode ocorrer remoção ou alteração dessa camada superficial de óxidos, modificando as características biocompatíveis do metal (WILLIAMS,1973).

KASEMO, em 1983, enfatizou que as interações químicas dos implantes metálicos com os tecidos vivos, são determinadas pelas propriedades do óxido superficial e não pelas propriedades químicas do metal, enquanto COOK & DALTON, em 1992, afirmaram que o comportamento químico do titânio é determinado unicamente por seu óxido de superfície.

A resposta tecidual local a um determinado implante é influenciada pelas características da superfície do metal. Sobre esse

assunto, WATSON *et al.*, em 1995, relataram que microirregularidades são necessárias para adequada adesão celular.

A resposta do organismo a uma determinada substância ou enxerto aloplástico pode variar desde uma reação inflamatória leve até uma resposta tecidual crônica, sendo que o grau de resposta depende quase que exclusivamente do material utilizado (COOK & DALTON, 1992). A literatura descreve três classes de biomateriais utilizados como implantes. Os biotolerantes são caracterizados por produzirem uma resposta tecidual onde uma fina camada de tecido fibroso se forma entre o implante e o tecido ósseo; os bioinertes correspondem aos materiais que promovem contato direto com o osso enquanto que os bioativos, se caracterizam pelo estabelecimento de uma união química direta com o osso adjacente.

BOWERS *et al.*, em 1992, relacionaram a rugosidade de superfície dos implantes de titânio ao aumento da resposta de células ósseas, através de estudo *in vitro*. Os autores encontraram significativo aumento da adesão celular nas superfícies rugosas dos implantes estudados, em relação às superfícies não rugosas. Esses resultados apresentaram-se de acordo com os estudos recentes, *in vivo*, e sugeriram

que os implantes com superfícies tratadas aumentam as áreas de contato ósseo. WONG *et al.*, em 1995, também avaliaram o efeito das características de superfície dos implantes de sobre a osseointegração.

CARLSSON *et al.* (1986), analisaram a reação tecidual frente a três tipos de implantes de titânio, em forma de cilindro, forma de parafuso e como placas. Os implantes apresentavam 99,75% de titânio comercialmente puro e a interface com o tecido ósseo foi analisada através de estudo histológico. Em todos os resultados obtidos, os implantes apresentavam-se clinicamente estáveis. No entanto, apesar dos implantes em forma de parafuso apresentarem-se completamente envolvidos por osso, os implantes cilíndricos e em forma de placa mostraram-se parcialmente conectados ao tecido ósseo adjacente.

As ligas de titânio têm sido fabricadas com o objetivo de se obter um material capaz de sofrer integração óssea e resistir às forças mastigatórias. O titânio comercialmente puro constitui-se em, aproximadamente, 99,75% de titânio, 0,05% de ferro, 0,1% de oxigênio, 0,03% de nitrogênio, 0,05% de carbono e 0,012% de hidrogênio (WORTHINGTON,1994).



O titânio comercialmente puro, o nióbio e a hidroxiapatita são materiais que têm se mostrado tolerantes ao tecido ósseo. Outros compostos como o aço inoxidável, ligas de cromo-cobalto-molibidênio, titânio-alumínio-vanádio e ligas de óxido de alumínio apresentam-se em fase de estudos, devido ao fato desses materiais não se apresentarem biocompatíveis. HOBKIRK & WATSON, em 1996, citaram o cobre e a prata como sendo substâncias consideradas inadequadas à utilização de implantes.

A avaliação da íntima relação entre o tecido ósseo e implantes de titânio-alumínio-vanádio, liga de cromo-cobalto e aço inoxidável aplicados em tíbias de coelhos, foi realizada por LINDER, em 1989, utilizando análise através de microscopia óptica. O autor observou, durante um período de 4 a 11 meses, a interface de contato entre o osso e o implante, onde sugeriu, com base em seus resultados, que a osseointegração poderia ser considerada, não como uma reação exclusiva para um material de implante específico, mas como a expressão de um reparo básico e inespecífico do osso.

TAIRA *et al.*, em 1989, examinaram os efeitos dos processos de fundição através do argônio, sobre as ligas de titânio. Para o trabalho, os autores consideraram além da estrutura metálica, as propriedades mecânicas e a resistência à corrosão das ligas de Ti-6Al-4V, Ti-15V, Ti-20Cu e Ti-30Pd. Os resultados mostraram basicamente um aumento da resistência à corrosão dessas ligas frente ao processo de fundição. Esses autores citaram vantagens como boa resistência à corrosão, excelente biocompatibilidade, peso leve e adequada durabilidade, além de preço razoável, que os colocam este material como o mais usado nos dias atuais.

## **2.3. SUBSTITUTOS ÓSSEOS**

Os enxertos ósseos são substâncias que têm sido empregadas para corrigir defeitos que impossibilitem a colocação dos implantes. (BOYNE, 1997; LOW *et al.*, 1997).

### **2.3.1. Enxertos autógenos**

Enxertos autógenos são caracterizados em função do indivíduo doador ser o próprio receptor. Esses tipos de enxertos além da capacidade

de osteocondução, são osteoindutores e possuem osteoblastos viáveis e células osteocompetentes. A porção inorgânica do osso é, predominantemente, a hidroxiapatita que é osteocondutora e funciona como matriz para revascularização e deposição óssea. O osso autógeno também contém as proteínas morfogenéticas que podem estimular a formação de osso no local receptor (BEIRNE, 1998).

As condições mais favoráveis ao restabelecimento da osteogênese, durante o período de reparo, são obtidas através dos enxertos ósseos autógenos. Estas condições são obtidas em função da presença de células ósseas viáveis e imunocompatíveis, fornecidas por esses enxertos ( ELLIS, III, 1992).

ANDERSON *et al.*, 1997 e BOYNE, 1997 citaram a crista ilíaca, a tibia, a calvária e a região da sínfise mandibular, como sendo os principais sítios doadores de tecido ósseo com características adequadas para a reconstrução de defeitos ósseos. A quantidade do tecido a ser removido irá direcionar para a escolha do sítio doador. No entanto, fatores como a opção do paciente quanto à escolha da região doadora deverá ser considerada principalmente nos casos onde o fator morbidade estiver em discussão.

O enxerto ósseo retirado do próprio indivíduo oferece, no entanto, esta desvantagem de requerer outra intervenção cirúrgica em local diferente ao da região receptora. Diversos procedimentos de remoção desses enxertos são utilizados. A técnica de remoção e a morbidade causada pela remoção de bloco ósseo da calvária foram descritas por FRODEL *et al.*, em 1993.

Durante o processo de seleção do material usado como enxerto ósseo deve-se considerar, também, os aspectos histológicos do material escolhido. A porção óssea medular apresenta rápida vascularização, proliferação de osteoblastos, deposição de matriz osteóide, produção de osso viável e reabsorção de osso necrótico, enquanto a cortical óssea caracteriza-se por baixa revascularização, proliferação osteoclástica, reabsorção ao longo dos canais harvesianos, crescimento aposicional, com produção lenta de osso viável (BUCLEY, 1998).

A obtenção de osso autógeno elimina a possibilidade de transmissão de doenças infecto-contagiosas e a possibilidade de rejeição do material. Enxertos ósseos podem servir tanto como suporte mecânico, quanto podem fornecer células osteogênicas. O osso autógeno, cortical ou

medular, é geralmente implantado durante o procedimento cirúrgico e apresenta potencial osteogênico. Todos os enxertos ósseos são inicialmente reabsorvidos, mas enxertos medulares são completamente reposicionados no momento da substituição óssea. Já o enxerto ósseo cortical permanece no local por um maior período de tempo, retardando a neoformação óssea local (GOLDBERG & STEVENSON, 1987).

### **2.3.2. Enxertos homogêneos**

Os enxertos homogêneos são caracterizados em função do doador ser da mesma espécie do receptor, porém sendo indivíduos diferentes. Nestes casos tem-se maior risco de transmissão de doenças e de rejeição do enxerto, mas apresenta a vantagem de não submeter o indivíduo receptor a uma outra intervenção cirúrgica em local diferente do sítio que irá receber o enxerto.

Nestes casos, a substância usada como enxerto pode ou não ser obtida de cadáveres humanos, apresenta as características de ser retirado em grandes quantidades, conter osteoblastos ou células osteoprogenitoras, evitar a possibilidade de cirurgias adicionais, possuir as proteínas

morfogenéticas que estimulam as células precursoras do sítio do enxerto a se diferenciarem em osteoblastos e depositar osso. Os materiais deste grupo são o osso seco congelado, o seco congelado desmineralizado e o osso irradiado. O enxerto ósseo seco congelado e o desmineralizado oferecem menor risco de transmissão de doenças infecto-contagiosas (BUCK *et al.*, 1989).

Com o objetivo de avaliar a capacidade de osteoindução do osso liofilizado, desmineralizado, SCHWARTZ *et al.*, em 1996, através de análise histomorfométrica, encontraram, entre seus resultados, que este material é capaz de induzir a neoformação óssea. Esse resultado está relacionado à proteína morfogenética presente no material estudado.

Sob a influência da proteína morfogenética, biomateriais podem ter seu potencial osteoindutor aumentado. Esta proteína quando implantada isoladamente em um sítio receptor tende a se difundir rapidamente, antes que a indução óssea ocorra (HOTZ & HERR, 1994). RABIE *et al.*, em 1996, observaram o processo de reparo ósseo do enxerto endocondral utilizado isoladamente e associado à matriz óssea desmineralizada. Os resultados alcançados mostram que a matriz óssea desmineralizada

aumenta o poder de osteoindução do enxerto ósseo, bem como do leito receptor.

PANSEGRAU *et al.*, em 1998, realizaram um estudo em 30 cães, onde compararam a osseointegração de implantes de titânio em enxertos ósseos autógenos e osso liofilizado, desmineralizado, avaliados nos períodos de 1, 2 e 3 meses. Os autores concluíram, após análise em microscopia ótica, microrradiografias e histomorfometria, que aos 2 e 3 meses, os implantes colocados em osso autógeno apresentaram um grau de osseointegração significativamente maior que os implantados em osso liofilizado e desmineralizado.

Osso desmineralizado tem demonstrado potencial para regeneração óssea em procedimentos cirúrgicos de diversas áreas. Clinicamente, enxerto ósseo homogêneo, desmineralizado, oferece as vantagens do processo rápido de reparo e habilidade para induzir considerável neoformação óssea (MARINAK *et al.*, 1989). Esses autores avaliaram o potencial osteogênico de duas preparações de osso humano desmineralizado, em ratos, e, através de análise histomorfométrica, foi verificado baixa produção óssea em resposta ao material estudado.

O poder de indução óssea de materiais como o osso humano seco desmineralizado congelado e o osso autógeno, foram investigados por BECKER *et al.*, em 1994, em trabalho utilizando alvéolos humanos após extrações. Os sítios foram avaliados entre 3 e 13 meses após, onde foi verificado que as biópsias com material autógeno, apresentavam canais vasculares e osso lamelar, enquanto os leitos com osso liofilizado desmineralizado congelado, revelaram a presença do material sem a evidência de neoformação óssea local.

BOWERS *et al.*, em 1991, realizaram um trabalho comparativo entre a regeneração óssea causada pela proteína osteogênica associada ao osso seco desmineralizado congelado e ao colágeno bovino purificado. Foi realizada análise histomorfométrica 6 meses após a confecção dos defeitos ósseos em humanos. Os resultados mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa, entre os materiais estudados.

REDONDO *et al.*, em 1997, investigaram a capacidade do enxerto ósseo autógeno desmineralizado congelado e o osso recém removido do sítio doador. Os resultados obtidos entre 2 e 6 semanas após



a experimentação em ratos, mostraram que o osso autógeno desmineralizado causa considerável osteoindução nos referidos períodos.

Alguns estudos têm sido realizados com o propósito de avaliar a possibilidade de transmissão de doenças infecto-contagiosas, quando são utilizados enxertos homogêneos. BUCK *et al.*, em 1989, através de pesquisas realizadas em cadáveres humanos vítimas da síndrome da imunodeficiência adquirida, observaram, que após o processamento laboratorial do osso biopsiado, foram encontrados anticorpos virais nas amostras. O uso do congelamento dos espécimes através do nitrogênio líquido na fase de vapor, inativou o vírus da imunodeficiência humana (HIV) apenas em alguns casos.

CARLSSON *et al.*, em 1994, relacionaram alguns critérios a serem considerados ao se utilizar enxertos homogêneos. Dentre eles, os autores recomendaram a seleção de um banco de tecidos que apresente um protocolo de seleção do doador e do processamento laboratorial do enxerto.

A matriz óssea desmineralizada é um biomaterial osteoindutor que se apresenta como um complexo insolúvel composto de colágeno tipo I e de um grupo de proteínas não-colágenas. Uma dessas proteínas é a BMP, que induz células mesenquimais a se diferenciarem em células jovens osteocompetentes, os osteoblastos. Esta substância é geralmente obtida de regiões próximas aos músculos e tendões e é desmineralizada a partir do ácido clorídrico 0,6N (ALPER *et al.*, 1989).

### **2.3.3. Enxertos heterógenos**

Esses tipos de enxertos são obtidos de espécie diferente da do indivíduo receptor. Nestes casos, têm-se aumentado os riscos de comportamento de corpo estranho e de transmissão de patologias diversas através do material enxertado. A imunogenicidade do osso bovino é reduzida pela remoção do componente orgânico do material.

A utilização do osso bovino desmineralizado na reconstrução de defeitos ósseos, foi investigada por TAGA *et al.*, em 1997, onde os autores estudaram o reparo de defeitos ósseos perenes, realizados em crânio de cobaias, através da aplicação de matriz óssea bovina desmineralizada.

Foram realizados defeitos de 8 mm de diâmetro na calvária de 12 cobaias adultos, divididos em 4 grupos. Os defeitos foram preenchidos com *osseobond* (matriz óssea bovina desmineralizada) e analisados através estudo histológico. Os autores observaram que, aos 6 meses, os defeitos preenchidos com matriz óssea bovina desmineralizada apresentavam-se totalmente ocupados por osseo em estado avançado de organização.

#### **2.3.4. Materiais aloplásticos**

A busca da descoberta de novos materiais com a capacidade de levar ao reparo de defeitos ósseos e que atendam às necessidades teciduais locais, permanece estimulando a pesquisa em diversas áreas das ciências biomédicas.

Os implantes aloplásticos são substâncias que têm sido desenvolvidas com o propósito de superar as limitações dos demais enxertos autógenos e homólogos e são também utilizadas como substitutos ósseos.

Hidroxiapatita, o principal constituinte inorgânico do tecido ósseo, é osteocondutor e não contém osteoblastos ou células osteogênitoras. Os índices de reabsorção da hidroxiapatita são determinados pelo tamanho das partículas, porosidade e estrutura cristalina do material; quanto menor o tamanho das suas partículas e maior a porosidade, mais rápida será a reabsorção.

As resinas poliuretanas vegetais são produtos de polióis e pré-polímeros, a partir de moléculas derivadas dos ácidos graxos vegetais (OHARA *et al.*, 1995). O polímero obtido da mamona apresenta como uma de suas grandes vantagens a sua disponibilidade no território brasileiro. O considerável potencial agrícola do Brasil o coloca como um dos maiores produtores da mamona, o que possibilita um baixo custo para obtenção deste material.

LOMANO *et al.*, em 1997, testaram a biocompatibilidade do polímero de mamona no interior do alvéolo de ratos. Através de estudo histológico e histométrico, os autores chegaram a resultados sugeriram que o material testado mostrou-se com capacidade de osseointegração durante o processo de reparo alveolar e que polímero de mamoma é biocampatível.

Materiais como o vidro bioativo têm mostrado resultados efetivos quando utilizado como enxerto ósseo na região maxilofacial (OONISHI *et al.*,1997 e WHEELER *et al.*,1998). NEWMAN *et al.*,1997 e WHEELER *et al.*,1998, afirmaram que a resposta tecidual proporcionada pelo vidro bioativo deve-se, em parte, à bioadesividade óssea obtida em função da composição química deste material.

SCHEPERS *et al.*, em 1991, com o objetivo de avaliar os grânulos de vidro bioativo como material para preenchimento de defeitos ósseos, implantaram este material nos maxilares de cães, concomitante à avaliação de partículas de hidroxiapatita, também implantadas nos animais. Os períodos observados foram de 1, 2, 3, 6 e 12 meses e os estudos foram realizados através de análise histológica. Os autores concluíram que os grânulos de vidro bioativo foram mais facilmente manipulados, mostraram uma tendência para sofrer dispersão nos tecido ao redor e que, este material, é adequado para promover a reparação óssea. Com relação à hidroxiapatita, concluiu-se que é uma substância capaz de levar à fibrose tecidual local.

OONISHI *et al.*, em 1997, compararam partículas de vidro bioativo (Bioglass®) com hidroxiapatita, como substitutos de enxertos ósseos autógenos. Os autores observaram que as duas principais desvantagens da hidroxiapatita são a dificuldade de colocação e de retenção das partículas desse material no defeito, além do longo período necessário ao total restabelecimento do tecido ósseo local. Foi observado ainda, que o vidro bioativo mostrou facilidade de manipulação, capacidade hemostática e promoveu reparação óssea em 2 semanas, comparadas com as 12 semanas necessárias para a hidroxiapatita.

Em estudo clínico realizado avaliando a atividade óssea do vidro bioativo, FROUM *et al.*, 1998, concluíram que este material mostrou significativa melhora na resposta tecidual quando comparado com defeitos livre de enxertos.

A utilização do sulfato de cálcio como material auxiliar do processo de reparação óssea também tem sido estudada nos últimos anos. CONNER, em 1996, avaliando o uso de enxerto ósseo com uma membrana de sulfato de cálcio após amputações radiculares, concluiu que esta substância usada como barreira sobre osso humano congelado

desmineralizado, se constitui em um bom meio para se obter regeneração óssea.

BLOCK *et al.*, em 1997, após utilizar osso autógeno para aumento da altura óssea na região posterior da maxila, observaram que o enxerto ósseo ideal deveria apresentar habilidade para produzir osso pela proliferação celular de osteoblastos viáveis transplantados ou por osteocondução de células ao longo da superfície do enxerto, remodelação de osso inicialmente formado dentro do osso lamelar imaturo, capacidade de estabilizar implantes quando colocados simultaneamente ao enxerto, baixo índice de infecção, ser facilmente disponível, manter a maturação óssea sem perda da função, apresentar baixa antigenicidade e alto índice de reabilitação.

### **3. PROPOSIÇÃO**

Diante da necessidade de se conhecer melhor o comportamento de algumas substâncias utilizadas para reconstruir defeitos ósseos, que impeçam a reabilitação implantodôntica, este trabalho tem como objetivo comparar, através de análise histológica, a regeneração óssea adjacente a implantes de titânio comercialmente puro, frente a três tipos de substitutos ósseos, após a implantação em tíbias de coelhos.



## **4. METODOLOGIA**

### **4.1 IMPLANTE UTILIZADO**

A metodologia empregada neste trabalho foi submetida à avaliação pela Comissão de Ética na Experimentação Animal - Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, sob processo número:075-1.

Foram utilizados 40 implantes de titânio comercialmente puro, do tipo cilíndrico de pressão, com 6 mm de comprimento e 2,6 mm de diâmetro, apresentando 3 sulcos regulares transversais em forma de “V”, em sua superfície, semelhantes às roscas de um parafuso<sup>1</sup> (Figura 1).

---

<sup>1</sup>INP – Sistema de Implantes Nacionais e de Próteses Comércio Ltda

## 4.2 ANIMAIS E ANESTESIA

Para este trabalho foram utilizados 10 coelhos albinos da raça Nova Zelândia, fêmeas, com idade variando entre 6 e 8 meses e peso médio de 3,9kg.

Cada animal recebeu 4 implantes cilíndricos de titânio comercialmente puro<sup>1</sup>, sendo 2 por tíbia, associados à substitutos ósseos, conforme tabela:

	LEITO PROXIMAL	LEITO DISTAL
<b>TÍBIA DIREITA</b>	Implante, sem material (grupo controle)	Implante + osso humano desmineralizado liofilizado <sup>2</sup> + sulfato de cálcio <sup>3</sup> (grupo 1)
<b>TÍBIA ESQUERDA</b>	Implante + polímero de mamona <sup>4</sup> (grupo 2)	Implante + sulfato de cálcio <sup>3</sup> (grupo 3)

<sup>2</sup>DEMBONE™ – Pacific Coast Tissue Bank

<sup>3</sup>CAPSET™ - Lifecore Biomedical – Oral Restorative Division - USA.

<sup>4</sup>AUG - EX®- Poliquil – Araraquara – São Paulo

Os animais foram mantidos em gaiolas durante 8 dias antes da realização das cirurgias, para que os mesmos pudessem se adaptar ao ambiente, e durante todo o período experimental, com dieta sólida<sup>5</sup> e água à vontade, em temperatura ambiente.

No dia anterior à cirurgia todos os animais foram submetidos a tricotomia da parte interna da perna, pesados e os cálculos referentes ao volume anestésico foram feitos para cada animal, na proporção de 0,1 ml para cada 200g de peso vivo, da mistura do anestésico geral Ketamina (Francotar)<sup>6</sup> e da solução aquosa a 2% de Cloridrato de 2-(2,6-xilidino)-5,6-dihidro-4-H-1,3-tiazina (Rompun)<sup>7</sup> em partes iguais, através da aplicação intramuscular profunda (MASSONE,1994). Dez minutos antes da aplicação anestésica, foi administrado atropina<sup>8</sup>, na dose de 0,08mg/kg, por via subcutânea, com o objetivo de prevenir uma possível bradicardia provocada pelos anestésicos gerais.

---

<sup>5</sup>Ração Sítios e Quintais® – Purina Nutrimentos

<sup>6</sup>Francotar® – Virbac do Brasil Indústria e Comércio Ltda. – São Paulo.

<sup>7</sup>Rompun® – Bayer S.A - Saúde Animal

<sup>8</sup>Sulfato de Atropina® – Ariston

Nos casos da evidência de sinais de dor, verificados devido à movimentação do membro inferior pelo animal, durante o procedimento cirúrgico, era administrado cerca de 1,8 ml do anestésico local Cloridrato de lidocaína a 2% sem vasoconstrictor<sup>9</sup>, na região da articulação do joelho, usando-se seringa tipo carpule.

Os animais permaneceram sem alimentação por um período de 6 horas antes da cirurgia, sendo retomada 2 horas após.

#### **4.3 CIRURGIA EXPERIMENTAL**

Os procedimentos operatórios experimentais foram realizados no Centro Cirúrgico para coelhos do Biotério da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - Unicamp, sob condições assépticas utilizando-se instrumental estéril e campos descartáveis, todos submetidos à autoclavagem sob a pressão de 15 psi, temperatura de

121° Celsius e por um tempo de 20 minutos. A técnica operatória foi baseada em protocolo semelhante ao descrito por JOHANSSON *et al.*(1991), criteriosamente realizada conforme a seqüência descrita.

Para antissepsia local utilizou-se solução alcoólica de polivilpirrolidona iodo a 10%<sup>10</sup>. As incisões da pele e camada subcutânea foram realizadas com lâmina de bisturi<sup>11</sup> número 15, montada em cabo número 3, com extensão de 2,0 cm, localizadas no terço médio da face interna da perna, no seu longo eixo (Figura 2).

Após a divulsão dos planos anatômicos, o periósteo foi também incisado com bisturi<sup>11</sup> número 15, e o osso foi mantido exposto através de afastadores dinâmicos de Farabeuf (Figura3). As perfurações ósseas foram realizadas usando-se brocas cirúrgicas seriadas<sup>12</sup>, iniciando com a broca de diâmetro 1,8 mm (Figura 4), seguindo-se para a broca de 2,6 mm (Figura 5), adaptadas a um motor elétrico<sup>13</sup> com mostrador digital de torque e velocidade, sob irrigação constante com

---

<sup>10</sup>Hi – Odin – Halex e Istar Laboratórios- Ind. Brasileira

<sup>11</sup>Feather Saffety Razor C.D., Ltd Medical Division – Japan.

<sup>12</sup>INP – Sistema de Implantes Nacionais e dePróteses Comerciais Ltda

<sup>13</sup>BLM 500 – VK Driller Equipamentos Elétricos Ltda.

solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9%<sup>14</sup>, e um contra-ângulo redutor 16:1<sup>15</sup> acoplado a este motor.

Cada leito confeccionado foi abundantemente irrigado com a solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9%<sup>14</sup>, para que fossem removidos possíveis fragmentos ósseos. Na tíbia direita, o leito proximal, permaneceu preenchido por coágulo sangüíneo e o implante, após ser retirado de sua embalagem, foi posicionado no local perfurado, manualmente através de um suporte plástico que possibilitava o seu manuseio sem o risco de contaminação.

O travamento do implante no leito era alcançado usando-se um bate-implante fornecido pelo fabricante, até que todos os sulcos em “V” estivessem recobertos pelo tecido ósseo.

---

<sup>14</sup>Fresenius Laboratórios Ltda.

<sup>15</sup>NSK E 16R Nakanishi Dental MFG. C. O., Ltd-Japan.

O leito distal foi então confeccionado seguindo-se os mesmos princípios descritos, sendo que, antes da colocação do implante, a perfuração confeccionada foi preenchida com a mistura de osso humano desmineralizado liofilizado e sulfato de cálcio , nas mesmas proporções (Figura 6). As estruturas anatômicas foram suturadas por planos, usando-se fio de nylon 4-0<sup>16</sup>.

Na tíbia esquerda, o leito proximal confeccionado, foi preenchido com a poliuretana de mamona, o implante foi posicionado através do dispositivo plástico (Figura 7) e inserido através do bate-implante (Figura 8); o leito distal confeccionado, através da mesma seqüência descrita, recebeu sulfato de cálcio e o implante.

Após a colocação dos dois implantes (Figura 9), toda a superfície óssea foi abundantemente irrigada com solução fisiológica a 0,9%, a sutura da camada muscular e da pele foram realizadas com fio de nylon 4-0 (Figuras 10 e 11).

---

<sup>16</sup>ETHICON® – Nylon4-0 . Johnson & Johnson – São José dos Campos/SP. – Brasil.

A velocidade de trabalho foi, em média, de 1000 rotações por minuto(rpm), com um torque de 36 Ncm e abundante irrigação externa com solução salina de cloreto de sódio a 0,9% .

Em cada animal operado foi realizada aplicação tópica da solução alcoólica de polivilpirrolidona iodada, como medida antisséptica local, tanto no pré quanto no pós-operatório imediato. Os animais permaneceram em observação no período inicial da recuperação anestésica e, em seguida, foram levados para suas gaiolas sendo mantidos confinados até o momento do sacrifício.

#### **4.4 SACRÍFICIO DOS ANIMAIS E ESTUDO HISTOLÓGICO**

Na décima segunda semana do pós-operatório, os animais foram sacrificados através do triplo da dose anestésica da mistura contendo Ketamina e da solução aquosa a 2% de Cloridrato de 2-(2,6-xilidino)-5,6-dihidro-4-H-1,3-tiazina, e procedeu-se a remoção dos blocos ósseos contendo os implantes.



Estes blocos foram imersos em solução de paraformaldeído a 4%<sup>17</sup> em tampão fosfato por um período de 24 horas, lavados em água corrente durante 24 horas e descalcificados em solução de  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (citrato de sódio) a 20%<sup>18</sup> e  $\text{HCOOH}$  (ácido fórmico) a 50%<sup>19</sup> em partes iguais (MORSE, 1945), durante um período de 52 dias. Ao final deste processo, cada fragmento ósseo contendo os implantes foi seccionado longitudinalmente ao implante, usando-se lâmina de barbear<sup>20</sup>.

Através do corte longitudinal realizado no bloco ósseo, cada implante foi delicadamente removido de seu respectivo sítio e procedeu-se a realização das etapas de processamento laboratorial. A sequência realizada ocorreu inicialmente com lavagem das peças em água corrente, durante 5 horas, desidratação com álcool a 70%<sup>21</sup> (12 horas),

---

<sup>17</sup> Polycienes, Inc. Warrington, P.A.

<sup>18</sup> Sódio citrato (P.A- A.C.S.) – Synth, Produtos para Laboratórios Ltda. Diadema -São Paulo

<sup>19</sup> Ácido fórmico (P.A) – Chemco, Indústria e Comércio Ltda. Campinas – São Paulo

<sup>20</sup> Lâmina de barbear – Gillett do Brasil

<sup>21</sup> Álcool a 70% - Diamante's Industrial Ltda.

álcool a 80%<sup>22</sup> (1 hora), álcool a 90%<sup>23</sup> (1 hora), álcool absoluto<sup>24</sup> (1 hora), diafanização com  $C_6H_4(CH_3)_2$  (xilol)<sup>25</sup> através de três trocas a cada 20 minutos, infiltração em parafina (paraplast)<sup>26</sup> (1 hora) em estufa a 70° centígrados realizando-se 3 trocas do material.

Cortes seriados, com 6µm de espessura, foram realizados longitudinalmente ao leito do implante e em seguida corados pela Hematoxilina de Carazzi<sup>27</sup> e Eosina – Lison<sup>28</sup>, para posterior visualização em microscópio óptico comum<sup>29</sup>.

---

<sup>22</sup>Álcool a 80% - Diamante's Industrial Ltda

<sup>23</sup>Álcool a 90% - Diamante's Industrial Ltda

<sup>24</sup>Álcool absoluto (99,5%) - Diamante's Industrial Ltda

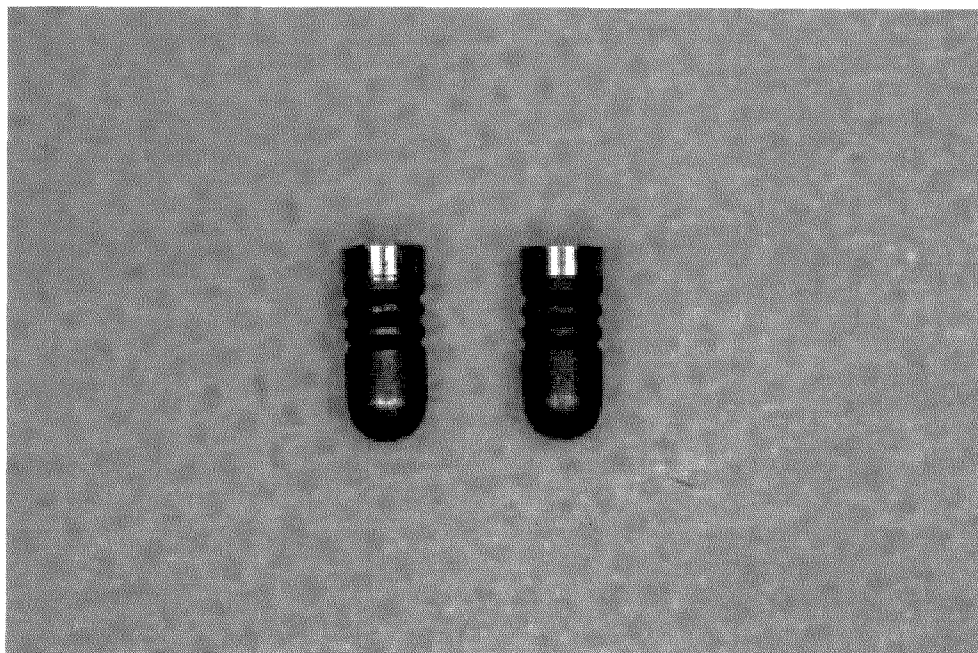
<sup>25</sup>Xilol (P.A) – Chemco, Indústria e Comércio Ltda. Campinas – São Paulo

<sup>26</sup>Paraplast® plus – Labware – St. Louis – USA

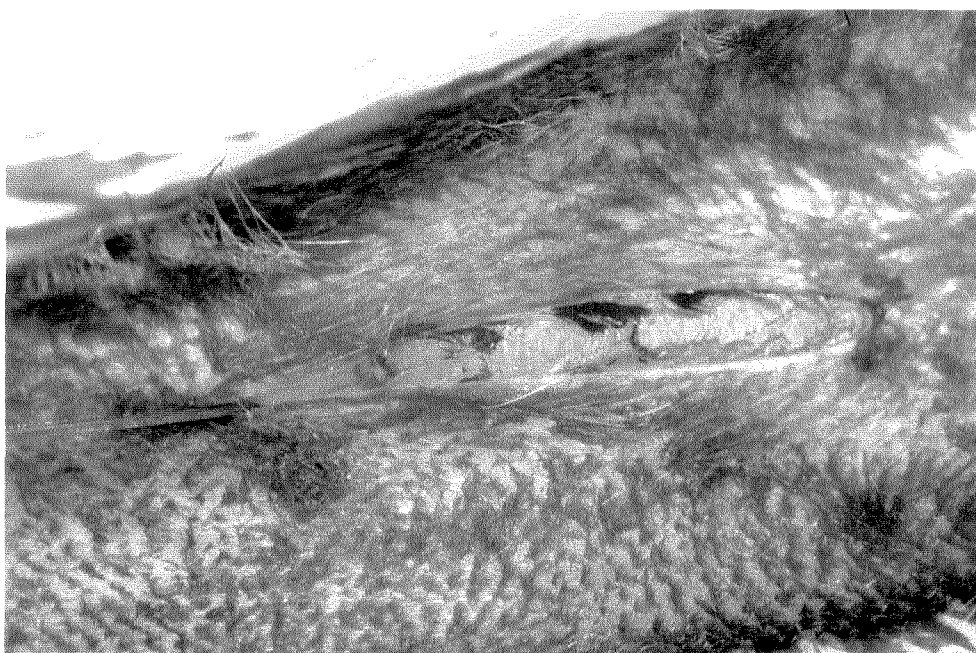
<sup>27</sup>E.Merck.Ag. Damarsta dt - Germany

<sup>28</sup>E.Merck.Ag. Damarsta dt - Germany

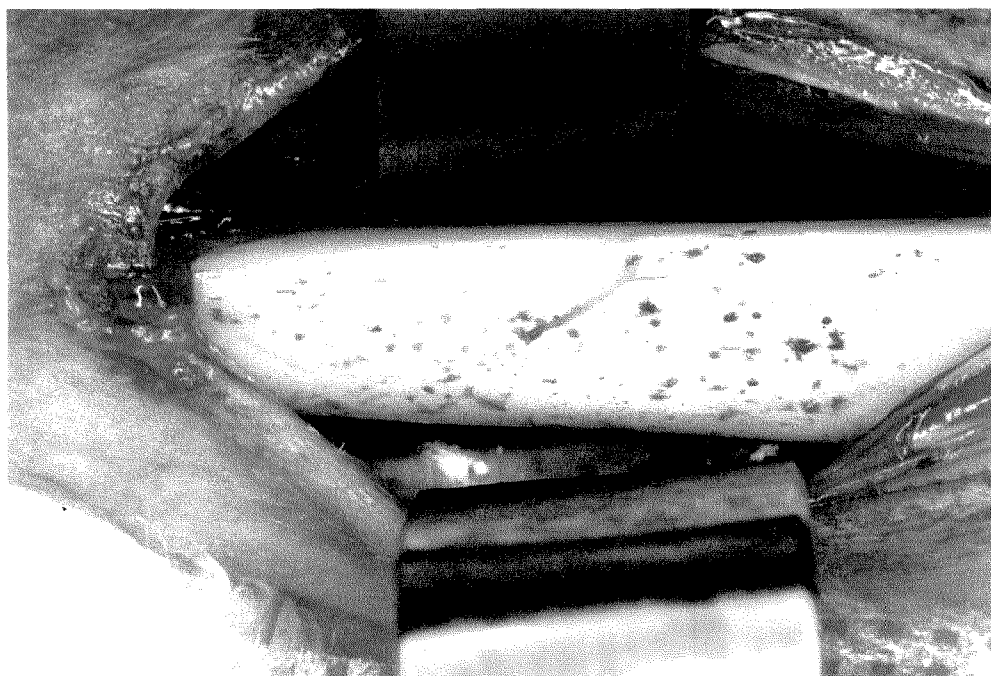
<sup>29</sup>Carl Zeiss Products, Germany.



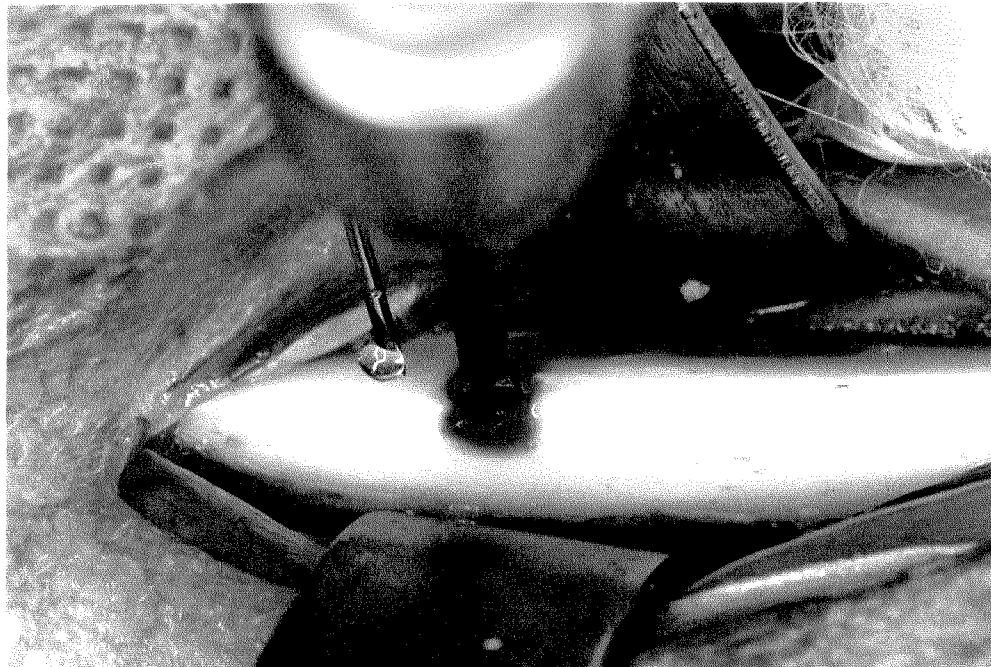
**Figura 1.** Implantes cilíndricos de titânio com sulcos regulares em forma de “V”.



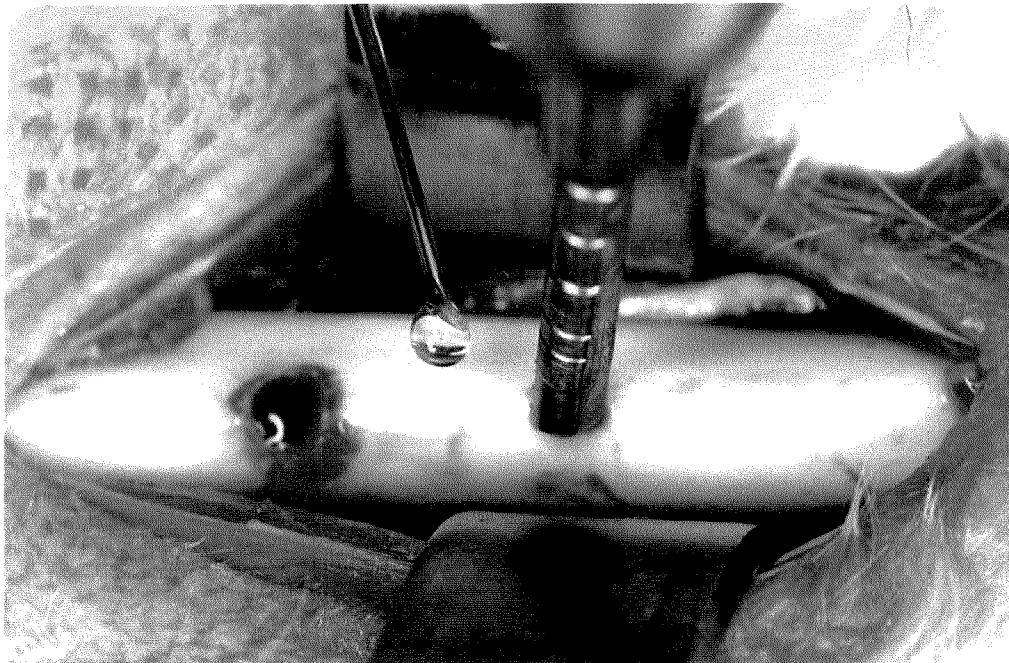
**Figura 2.** Incisão da pele e tecido subcutâneo realizada na face medial da perna.



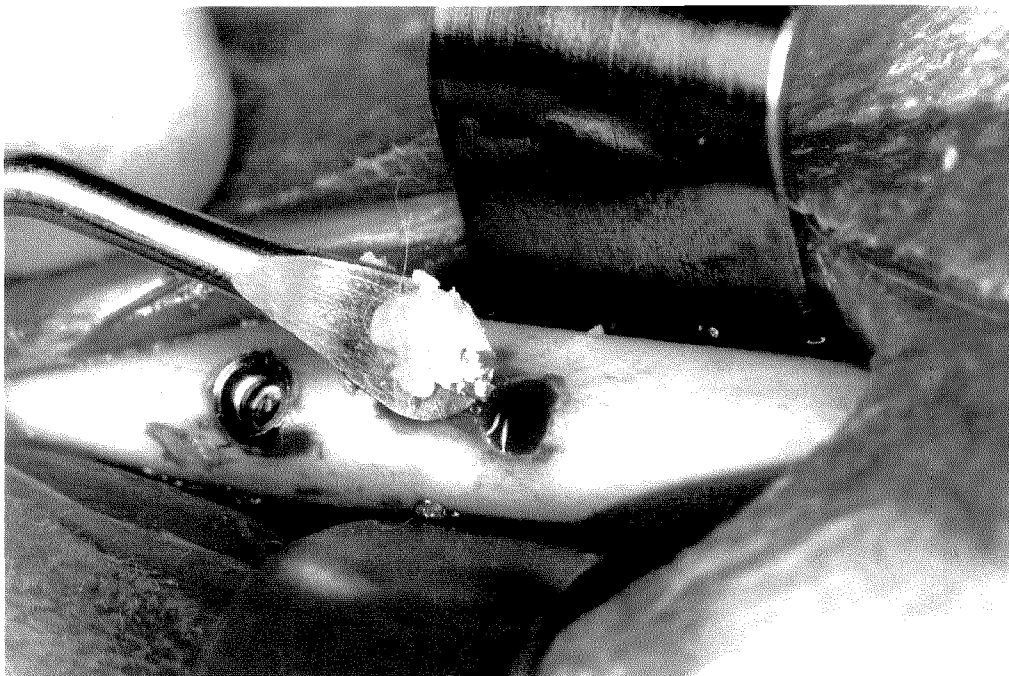
**Figura 3.** Porção medial da tíbia exposta, através do afastamento do tecido muscular e periósteo.



**Figura 4.** Perfuração com broca em forma de lança, de 1,8 mm diâmetro, sob irrigação com solução fisiológica.

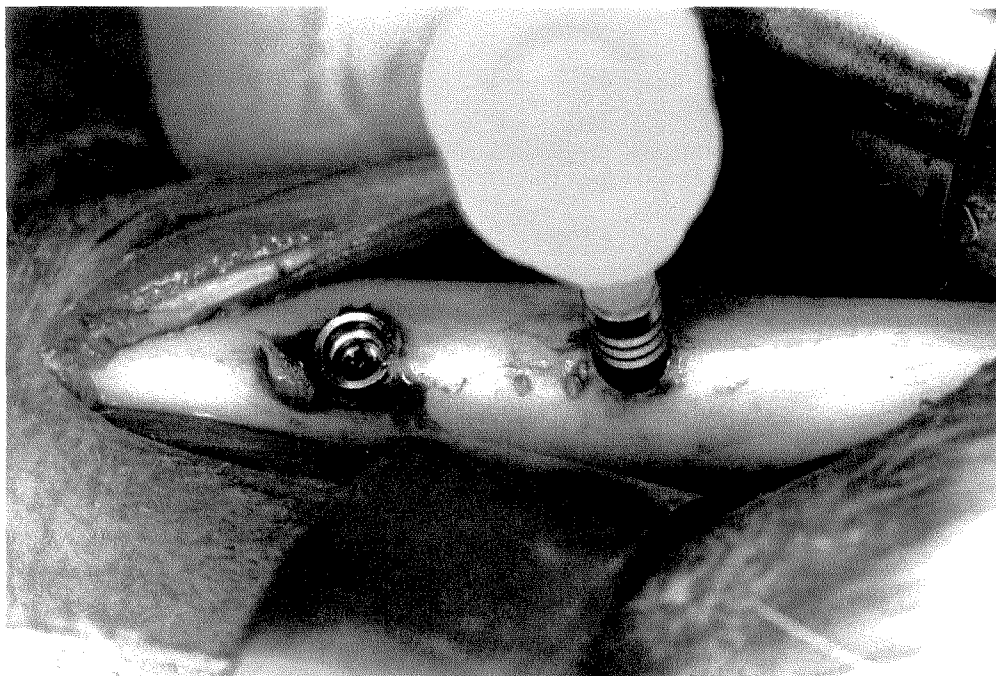


**Figura 5.** Perfuração com broca de 2,6 mm de diâmetro.

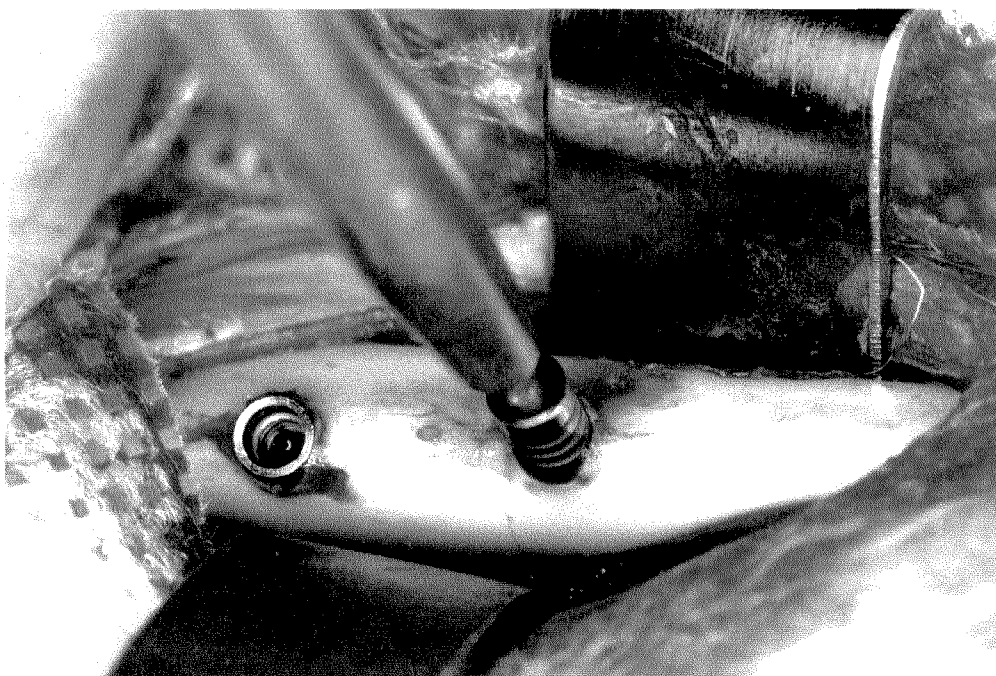


**Figura 6.** Colocação do osso humano desmineralizado liofilizado associado ao sulfato de cálcio.

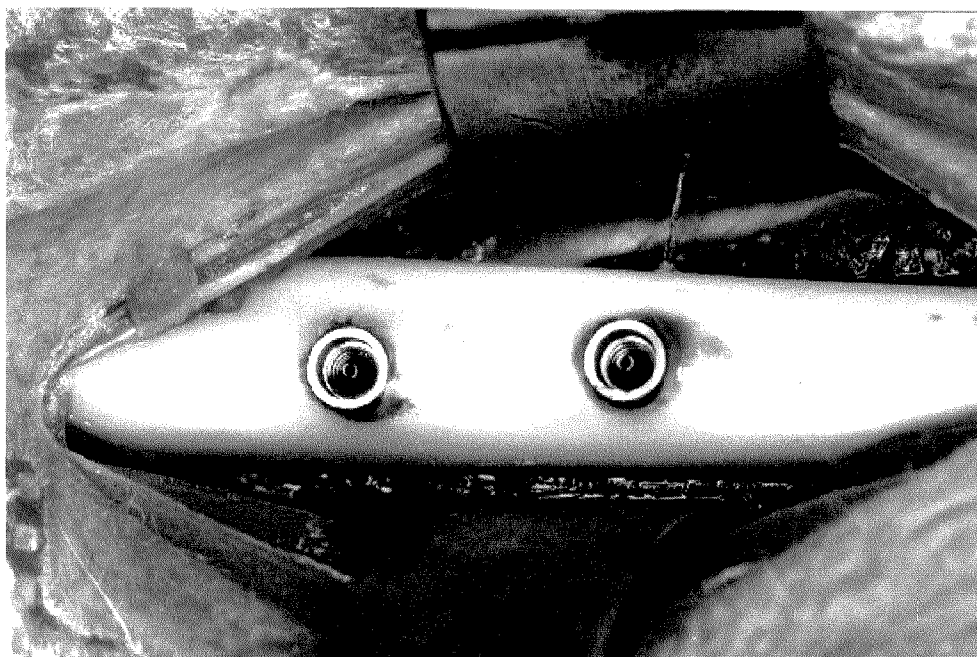




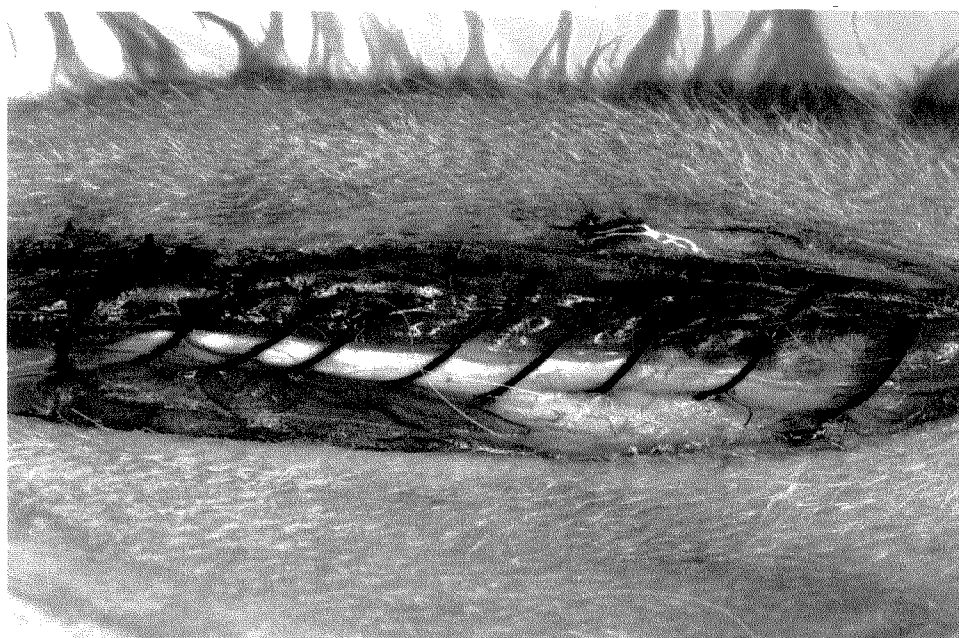
**Figura 7.** Inserção do implante através do dispositivo plástico, sem contato manual



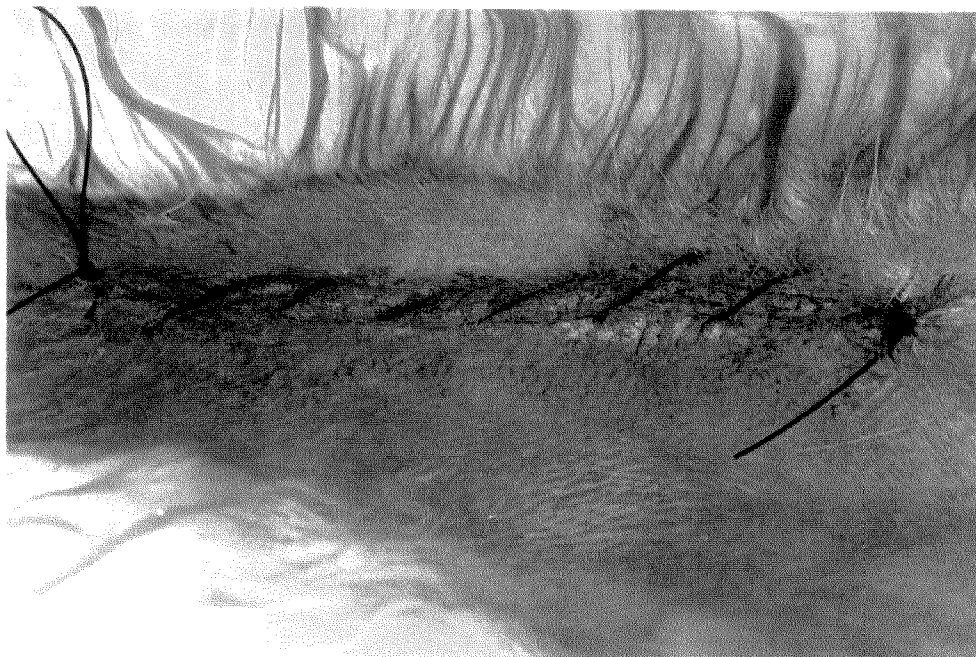
**Figura 8.** Uso do bate-implante para inserção do cilindro de titânio.



**Figura 9.** Implantes inseridos após o uso do bate implante e martelo cirúrgico.



**Figura 10.** Sutura da camada muscular com fio de nylon através de pontos contínuos.



**Figura 11.** Pele suturada com fio de nylon através de pontos contínuos.



## **5. RESULTADOS**

### **5.1 Análise histológica**

O exame histológico das regiões associadas ao implante foi realizado no Laboratório Histologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – Unicamp, através de uma avaliação no sentido súpero-inferior, partindo-se da região periostal, seguindo-se para região da cortical óssea, região do endóstio e região de osso medular.

#### **5.1.1 Grupo controle: implante e coágulo sangüíneo**

##### **REGIÃO PERIOSTAL**

Foi observado espessamento da camada periostal, com presença de tecido conjuntivo em toda a sua superfície. Houve formação de vasos sangüíneos nesta região e uma fina camada de tecido conjuntivo estava presente na interface entre o implante e o tecido ósseo. O osso neoformado apresentava-se bastante celularizado, mostrando um padrão de osso

maturo. Não foram evidenciadas áreas de necrose óssea em toda a superfície de contato do implante com o tecido ósseo (Figura12).

### REGIÃO DE OSSO CORTICAL

A região da cortical óssea apresentou osso neoformado invadindo o sulco em “V” do implante, mostrando características de alto grau de maturação. Entre o osso neoformado e o pré-existente havia uma linha separando os dois tipos de tecido (linha cimentante). Dentro da área do novo osso pôde-se observar a presença de vasos sangüíneos neoformados. Uma fina camada de tecido conjuntivo foi verificada nas zonas da interface do implante com o tecido ósseo (Figura 13).

### REGIÃO DE ENDÓSTEO

Houve neoformação óssea nos espaços correspondentes aos segundo e terceiro sulcos em “V” do implante. As áreas de osso neoformado e osso preexistente mostravam grande número de vasos sangüíneos, com formação de uma fina linha cimentante, separando os dois tipos de osso. Fragmentos de osso não vital estavam presentes em

algumas regiões próximas à zona de interface do implante com o tecido ósseo, sem a presença de processo inflamatório associado. O tecido ósseo formado após a colocação do implante apresentava-se com alto grau de celularidade, caracterizando um tecido com maturação adiantada (Figuras 14 e 15).

### REGIÃO MEDULAR

Na região medular foi observado neoformação óssea na zona de interface do implante com o osso pré-existente. Células características do tecido medular e novos vasos estavam presentes na maioria dos espaços observados. Foram vistos osteoblastos na periferia das trabéculas ósseas neoformadas. Este tecido mostrava-se organizado e separado do osso pré-existente pela cimentante. O novo osso formado apresentava-se com elevado número de células, com características de osso em processo de maturação. O tecido adiposo da região medular apresentou-se bastante celularizado e vascularizado (Figuras 16 e 17).

### **5.1.2. Grupo com o osso humano desmineralizado liofilizado e sulfato de cálcio**

#### **REGIÃO PERIOSTAL**

Foi observado, na superfície da região periostal, uma fina camada de tecido conjuntivo pouco denso, visualizado também na área de interface do implante com o tecido ósseo. Pôde-se visualizar espessamento do tecido ósseo desta região, com elevado grau de atividade osteoblástica. Vasos sangüíneos neoformados estavam presentes em grande número, nas amostras examinadas. Não houve sinais de processo inflamatório associado (Figura 18).

#### **REGIÃO CORTICAL**

Presença de osso neoformado preenchendo o primeiro sulco em “V” do implante, vascularizado, com elevado índice de células próprias do tecido. Foram observados sinais de alto grau de maturação óssea, com presença de linha cementificante separando o osso neoformado do pré-existente. Na maioria das amostras avaliadas, foi observado delgada

camada de tecido conjuntivo na interface osso/implante, rico em fibroblastos, sem sinais de células próprias da reação inflamatória (Figura 19).

### REGIÃO DO ENDÓSTEO

A região endosteal apresentou osso neoformado junto aos segundo e terceiro sulcos do implante, mostrando características de osso com alto grau de maturação e elevado número de osteoblastos dispostos de forma regular em toda a extensão da área examinada. A linha cimentante foi observada separando o osso antigo do osso neoformado. Foram observados remanescentes do material junto à interface osso formado/implante. Nas amostras examinadas foram vistas algumas áreas de camadas de tecido conjuntivo junto à superfície de contato entre o osso e o implante (Figura 20).

## REGIÃO MEDULAR

Foi observado uma predominância de tecido adiposo com elevado grau de celularidade e bastante vascularizado. Na porção apical do implante houve formação de uma delgada camada de tecido conjuntivo recobrindo toda esta região. Este tecido mostrava-se com padrão de organização celular dentro dos padrões de normalidade. Pôde-se observar, em algumas amostras, na área apical do leito do implante, algumas ilhas de tecido ósseo associadas a um processo de reação inflamatória (Figuras 21 e 22).

### 5.1.3. Grupo com o polímero de mamona (*Ricinus communis*)

#### REGIÃO PERIOSTAL

Na região periostal houve remodelação da superfície óssea, com presença de vasos sangüíneos. O tecido ósseo nesta região apresentou-se com aspecto de osso maturo. Na área de interface do implante com o tecido ósseo foi visto fina camada de tecido conjuntivo frouxo, apresentando fibroblastos e fibras colágenas pouco organizadas (figura 23).

#### REGIÃO DE OSSO CORTICAL

Nesta região, observou-se presença de tecido ósseo neoformado ocupando o primeiro sulco do implante, bastante vascularizado. Os espaços lacunares do tecido ósseo formado apresentaram-se maiores, com formação de linha cimentante separando este tecido do osso pré-existente. Foi visualizado formação de tecido conjuntivo nas áreas de contato do implante com o tecido ósseo (Figuras 24 e 25).

### REGIÃO DO ENDÓSTEO

Observou-se formação de tecido ósseo junto aos segundo e terceiro sulcos em “V” do implante. Este tecido apresentava-se vascularizado, separado do tecido ósseo pré-existente por uma linha cimentante, nitidamente visível nas amostras analisadas. Pequenas áreas de osso não vital foram vistas na zona de interface do implante e o tecido ósseo, com ausência de processo inflamatório associado. Em algumas regiões da interface do implante com o osso adjacente foi observado formação de tecido conjuntivo, bastante vascularizado. Remanescente do polímero de mamona foi observado nesta região, apresentando-se envolvido por tecido conjuntivo sem sinais de processo inflamatório (Figuras 26 e 27).



## REGIÃO MEDULAR

A porção óssea medular apresentou-se preenchida por tecido adiposo ricamente celularizado. Na região mais apical do leito do implante pôde-se observar ilhas de ossificação. O tecido ósseo neoformado apresentava direção de aposição a partir do endóstio para a porção apical. Este tecido apresentava-se ricamente vascularizado e mostrava-se separado do tecido ósseo pré-existente por uma linha cimentante (Figuras 28 e 29).

#### **5.1.4. Grupo com o sulfato de cálcio**

##### REGIÃO PERIOSTAL

Foi observado nesta região, uma camada de tecido conjuntivo em sua porção mais superficial. Houve remodelação óssea da camada periostal, com presença de osso neoformado e vasos sanguíneos bastante calibrosos. Na interface do implante com o tecido ósseo foi visto uma delgada camada de tecido conjuntivo pouco denso, sem a presença de células características do infiltrado inflamatório (Figura 29).

##### REGIÃO DE OSSO CORTICAL

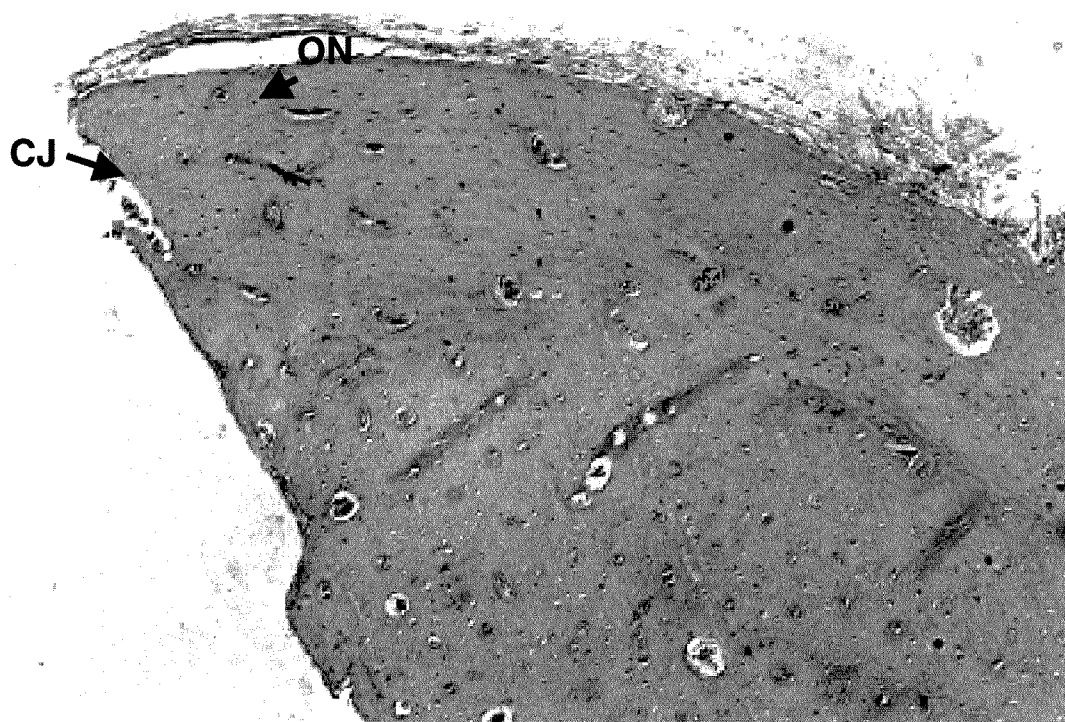
Observou-se presença de tecido ósseo neoformado junto à superfície do primeiro sulco do implante. Uma fina camada de tecido conjuntivo estava presente na região de interface do implante com o tecido ósseo. O osso neoformado apresentou-se com aspecto de alto grau de maturação. Separando o osso neoformado do pré-existente, foi observado uma linha cimentante nitidamente visível (Figura 31).

### REGIÃO DO ENDÓSTEO

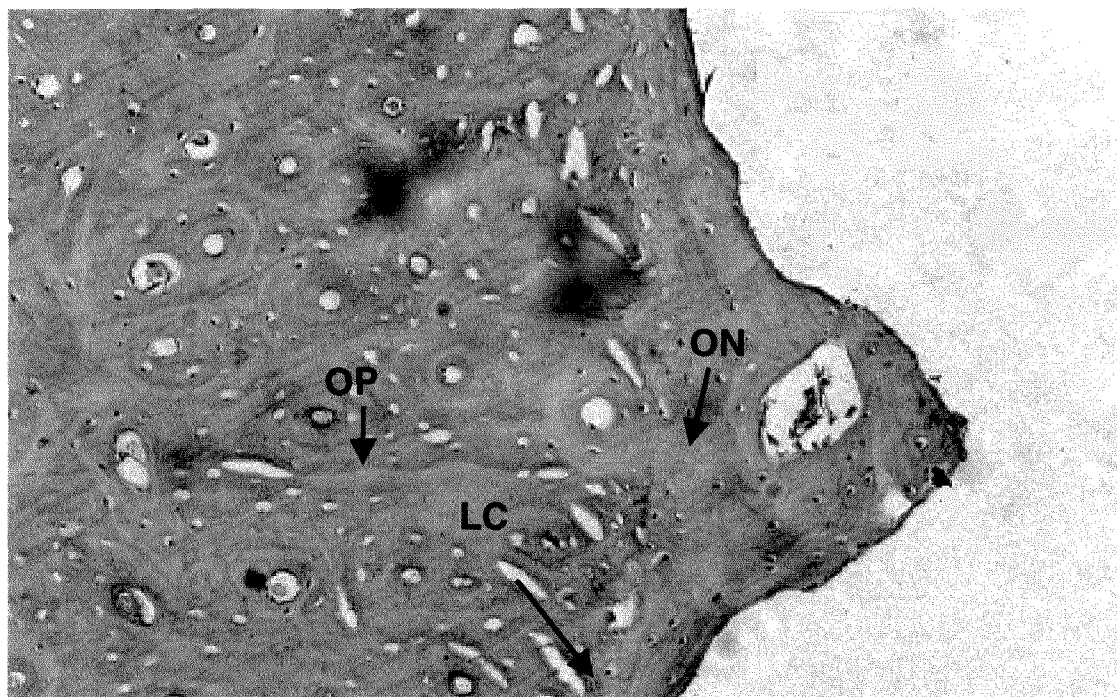
Na região do endóstio, houve formação de tecido ósseo vascularizado preenchendo os segundo e terceiro sulcos do implante. Havia presença de linha cimentante separando o osso neoformado do tecido ósseo pré-existente. Junto à interface osso-implante observamos a formação de uma delgada camada de tecido conjuntivo (Figura 32).

### REGIÃO MEDULAR

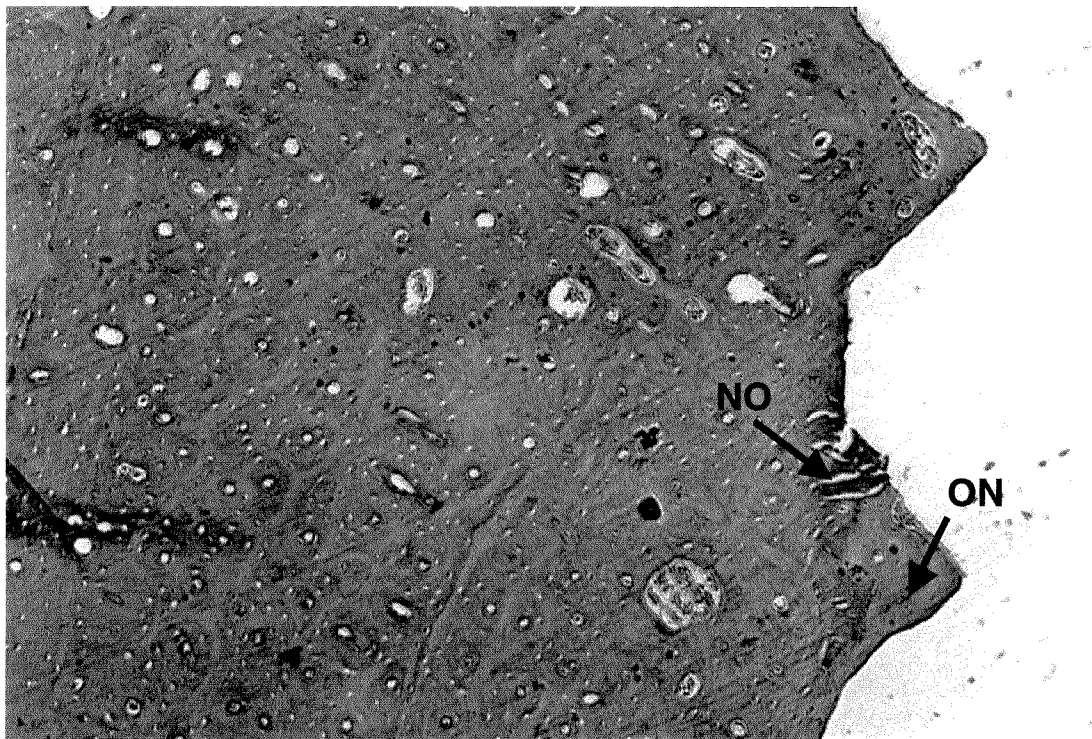
Foi observado neoformação óssea com direção de aposição a partir do endóstio para porção apical. Presença de tecido adiposo ricamente celularizado e vascularizado. Observamos uma fina camada de tecido conjuntivo recobrimdo toda a região. Em algumas lâminas observamos presença de remanescente do material implantado contornado por uma fina camada de tecido conjuntivo (Figura 33).



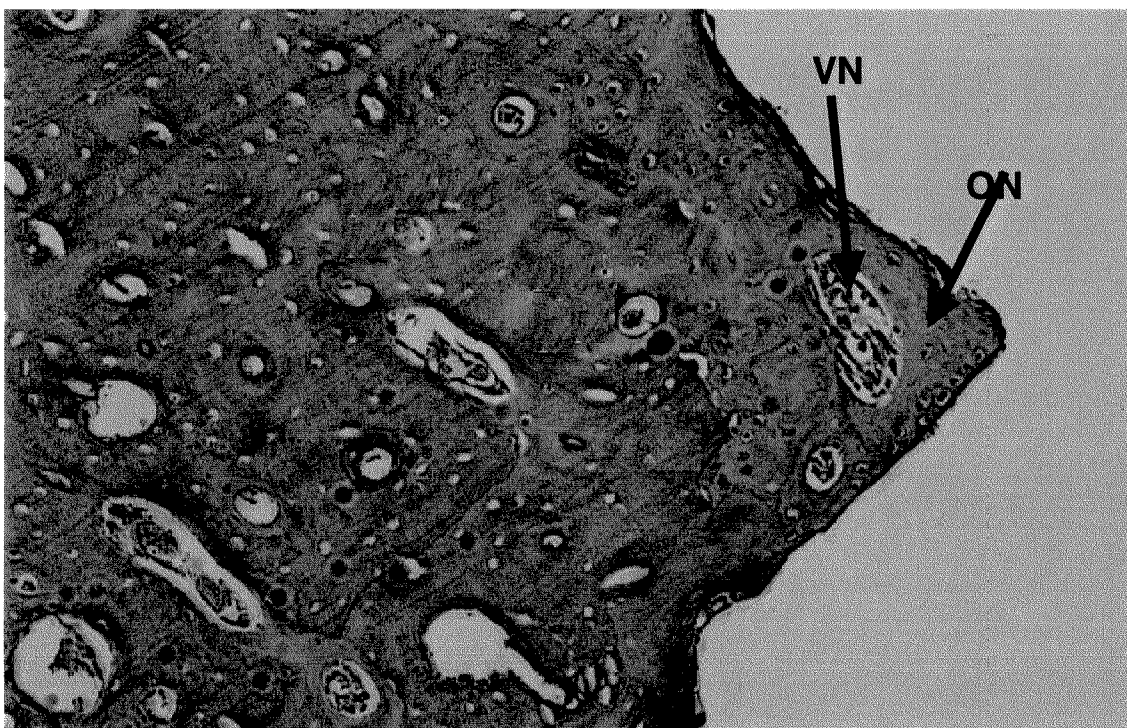
**Figura 12.** Grupo controle, H.E. 200x. Camada periostal (P) espessa; presença de tecido conjuntivo (CJ) na interface osso/implante; pode-se notar osso neoformado (ON), celularizado, na superfície do implante.



**Figura 13.** Grupo controle, H.E. 400x. Camada cortical (CC) mostrando osso neoformado (ON) invadindo um dos sulcos do implante; uma linha cimentante (LC) pode ser visualizada separando o osso pré-existente (OP) do osso neoformado (ON).

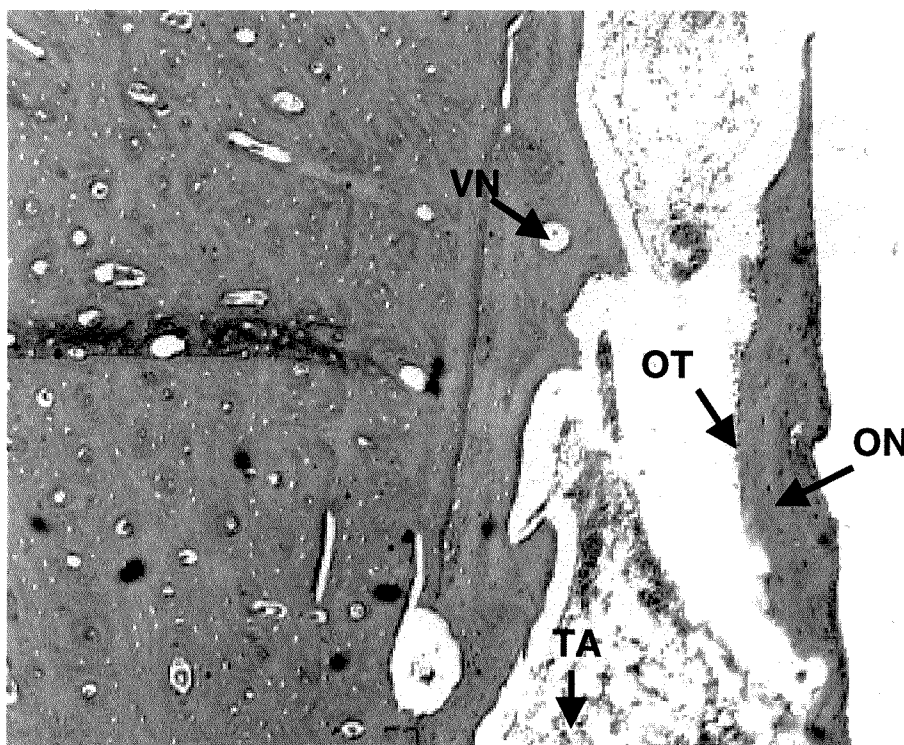


**Figura 14.** Grupo controle, H.E. 200x. Camada endosteal (CE) mostrando osso neoformado (ON) ocupando os espaços correspondentes aos Segundos e terceiros sulcos do implante e apresentando vasos neoformados (VN); observa-se áreas de necrose óssea (NO) superficial.

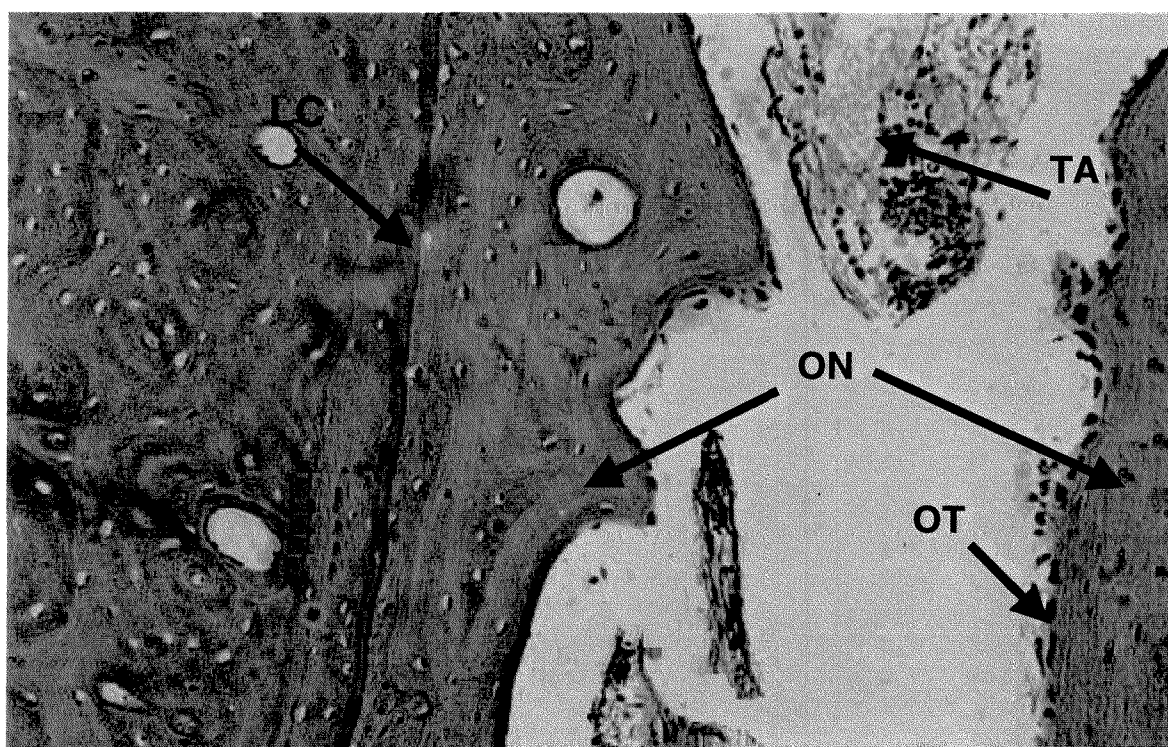


**Figura 15.** Grupo controle, H.E. 400x. Camada endosteal (CE) mostrando osso neoformado (ON) ocupando o espaço de um dos sulcos do implante e apresentando vasos neoformados (VN).

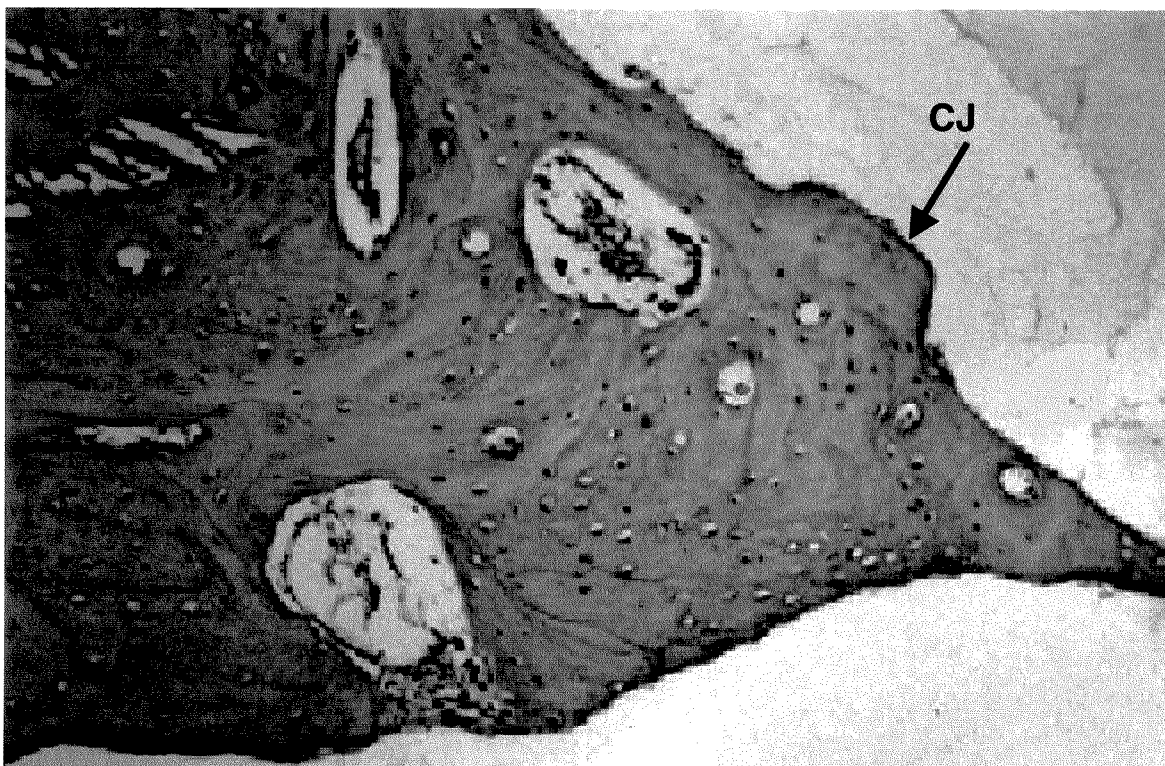




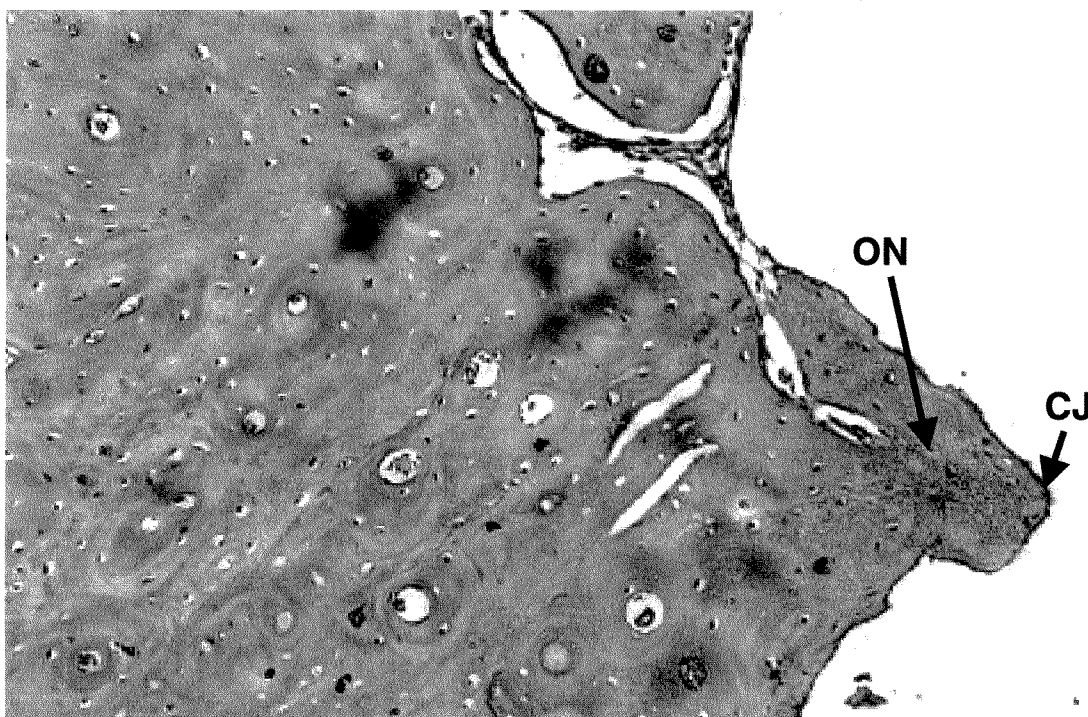
**Figura 16.** Grupo controle, H.E. 200x. Camada medular (CM) exibindo osso neoformado (ON) na interface osso/implante; presença de osteoblastos (OT) e vasos neoformados (VN) nos espaços observados; verifica-se tecido adiposo (TA) bastante vascularizado em toda a região medular.



**Figura 17.** Grupo controle, H.E. 400x. Camada medular (CM) exibindo osso neoformado (ON) na interface osso/implante; presença de osteoblastos (OT) e vasos neoformados (VN); observa-se delgada linha cimentante (LC) entre o osso neoformado e o pré-existente; pode-se verificar o tecido adiposo (TA) bastante vascularizado.

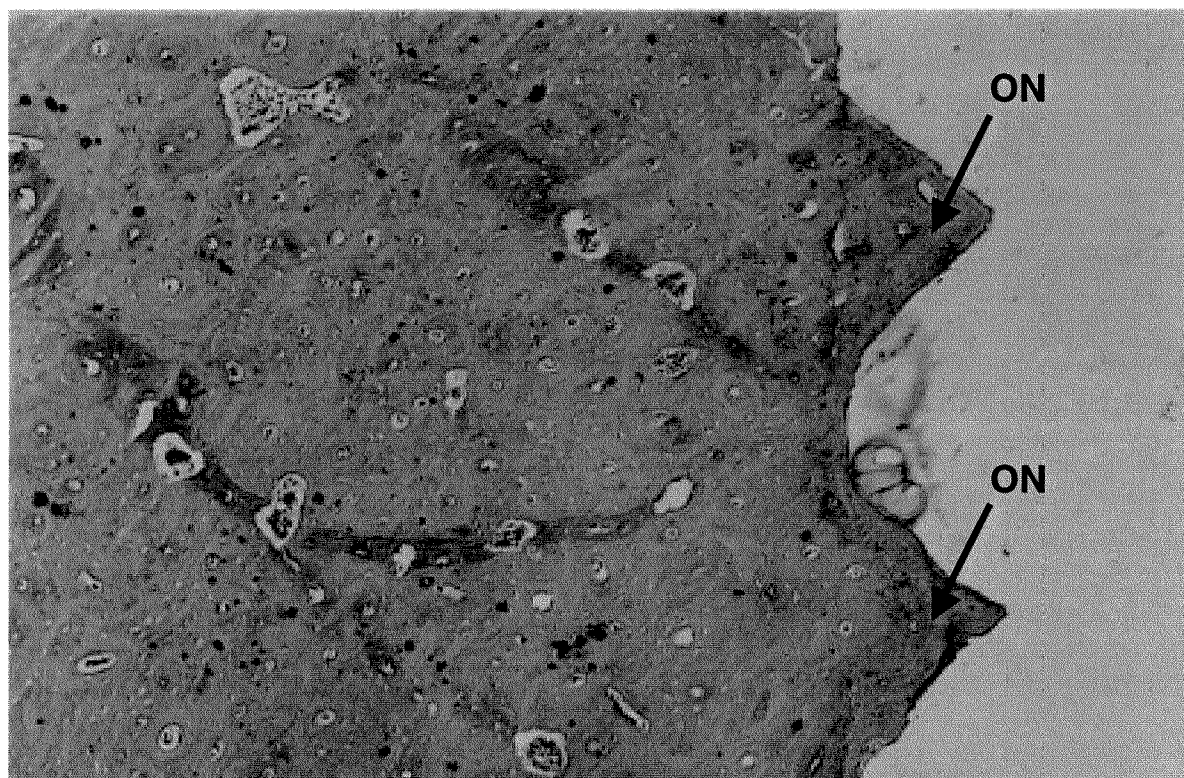


**Figura 18.** Grupo com osso humano desmineralizado liofilizado e sulfato de cálcio, H.E. 400x. Camada periostal (CP) exibindo tecido conjuntivo (CJ) na interface osso/implante; observa-se espessamento do tecido ósseo nesta região, alta atividade osteoblástica e vasos neoformados (VN), sem sinais de processo inflamatório. neoformados (VN), sem sinais de processo inflamatório.

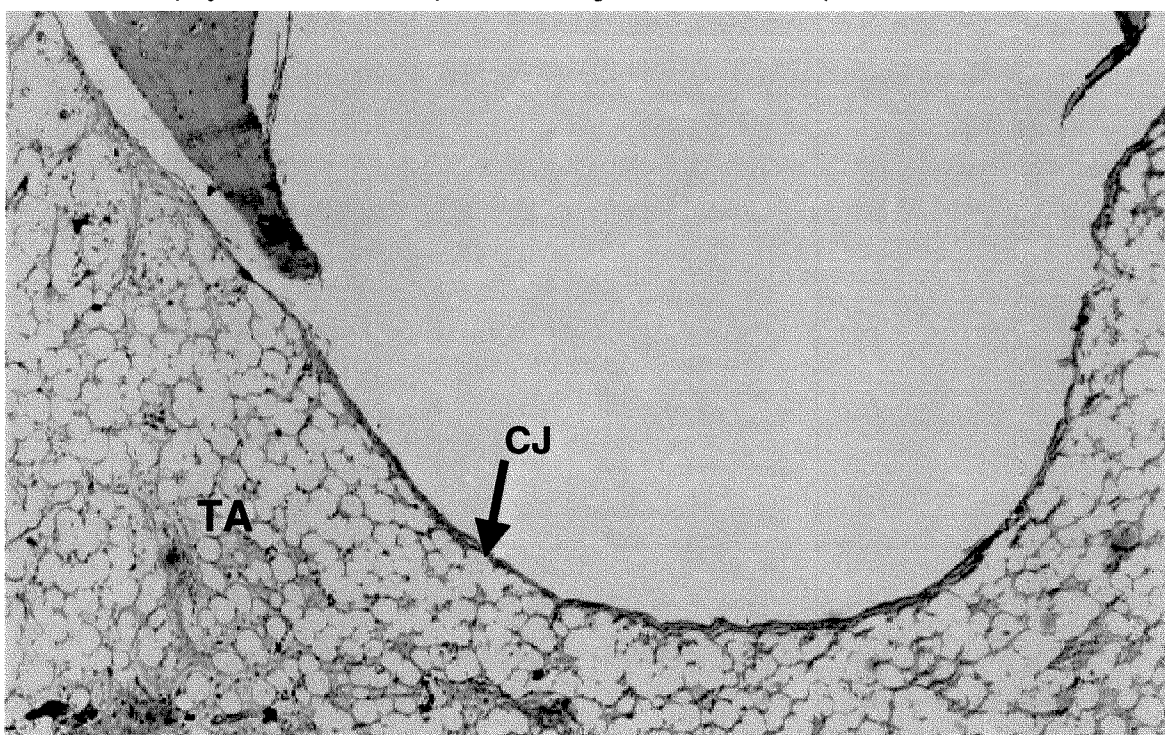


**Figura 19.** Grupo com osso humano desmineralizado liofilizado, H.E. 400x. Camada cortical (CC), com presença de osso neoformado (ON) preenchendo o espaço do primeiro sulco do implante; pode-se observar uma delgada linha de tecido conjuntivo (CJ) na interface osso/implante.



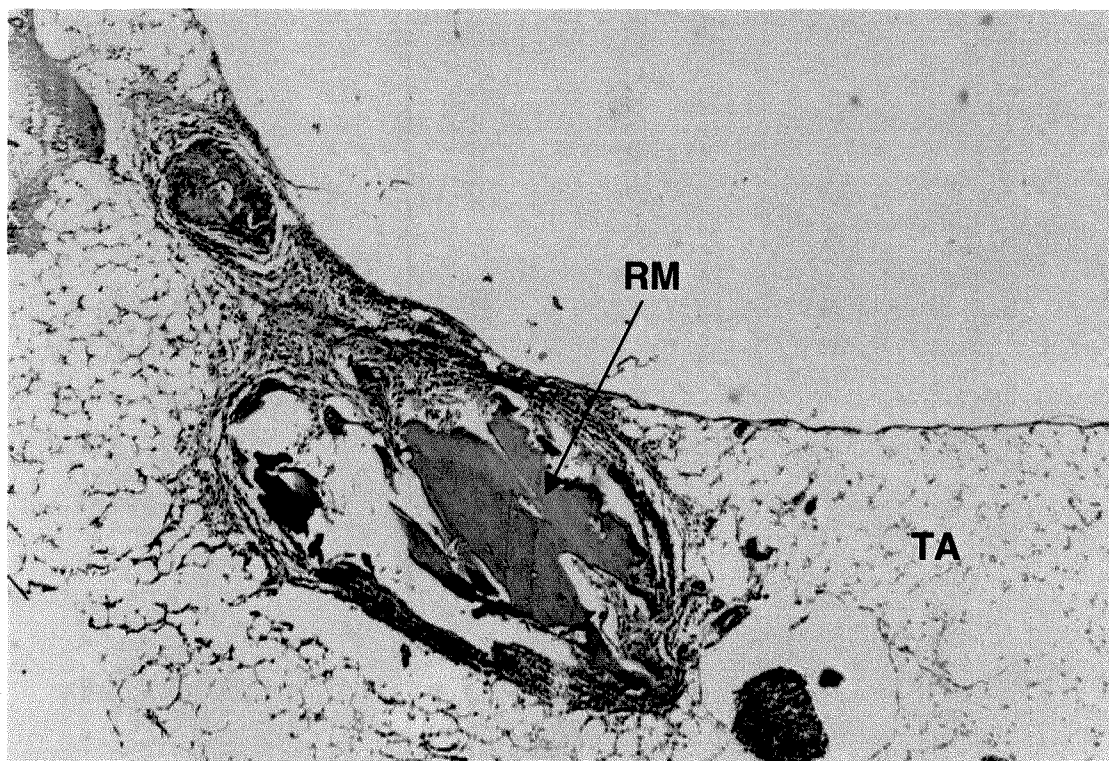


**Figura 20.** Grupo com osso humano desmineralizado liofilizado e sulfato de cálcio, H.E. 200x. Camada endosteal (CE), com presença de osso neoformado (ON) preenchendo os espaços referentes aos primeiro e segundo sulcos do implante.

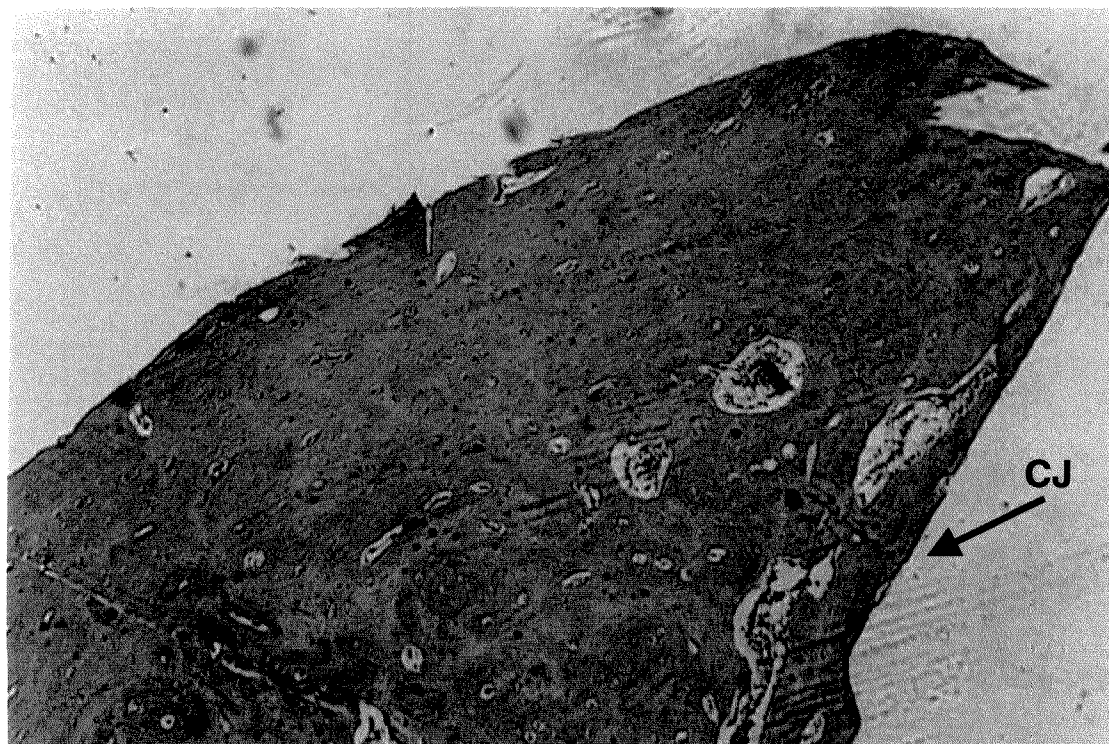


**Figura 21.** Grupo com osso humano desmineralizado liofilizado e sulfato de cálcio, H.E. 400x. Camada medular (CM), com predominância do tecido adiposo (TA) bastante celularizado; presença de tecido conjuntivo (CJ) na região apical do implante.

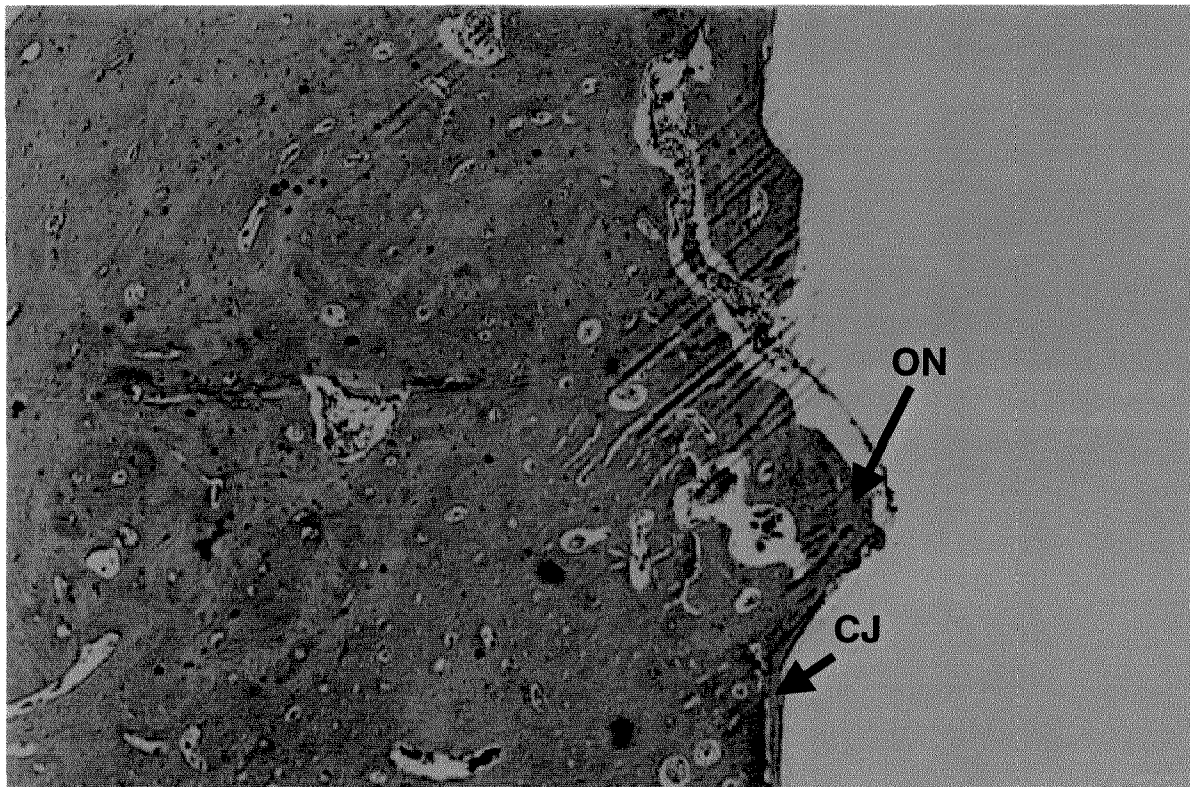




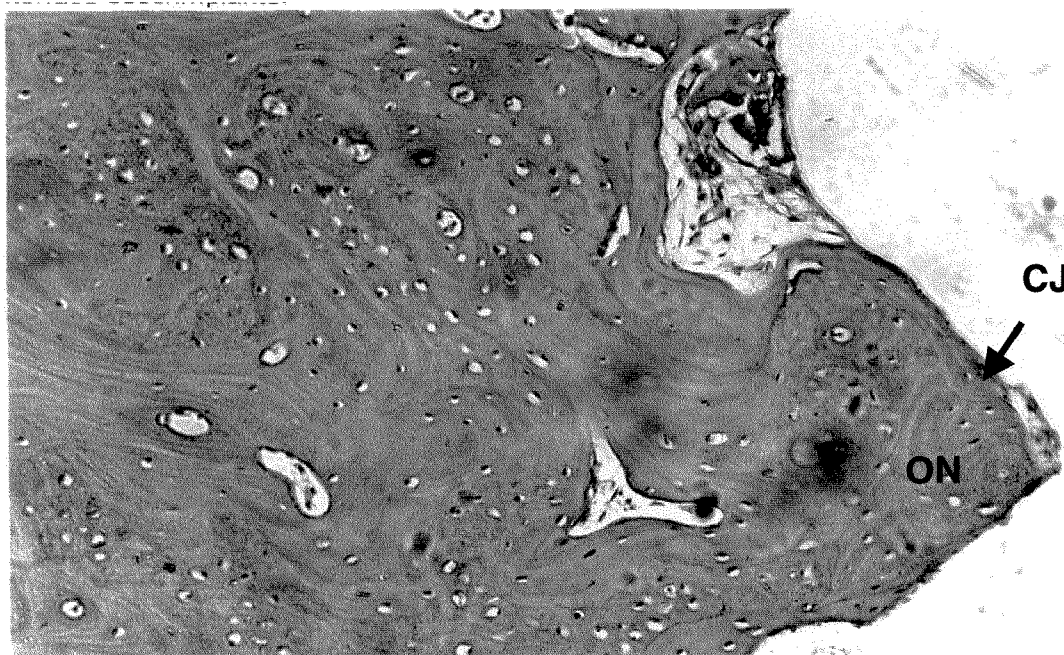
**Figura 22.** Grupo com osso humano desmineralizado liofilizado e sulfato de cálcio, H.E. 400x. Camada medular (CM), com predominância do tecido adiposo (TA) bastante celularizado; observa-se na região apical do leito do implante, ilhas de remanescentes do material (RM) associadas a intensa reação inflamatória.



**Figura 23.** Grupo com polímero de mamona, H.E. 200x. Camada periosteal (CP), observa-se remodelação da superfície óssea; presença de tecido conjuntivo (CJ) na interface osso/implante.

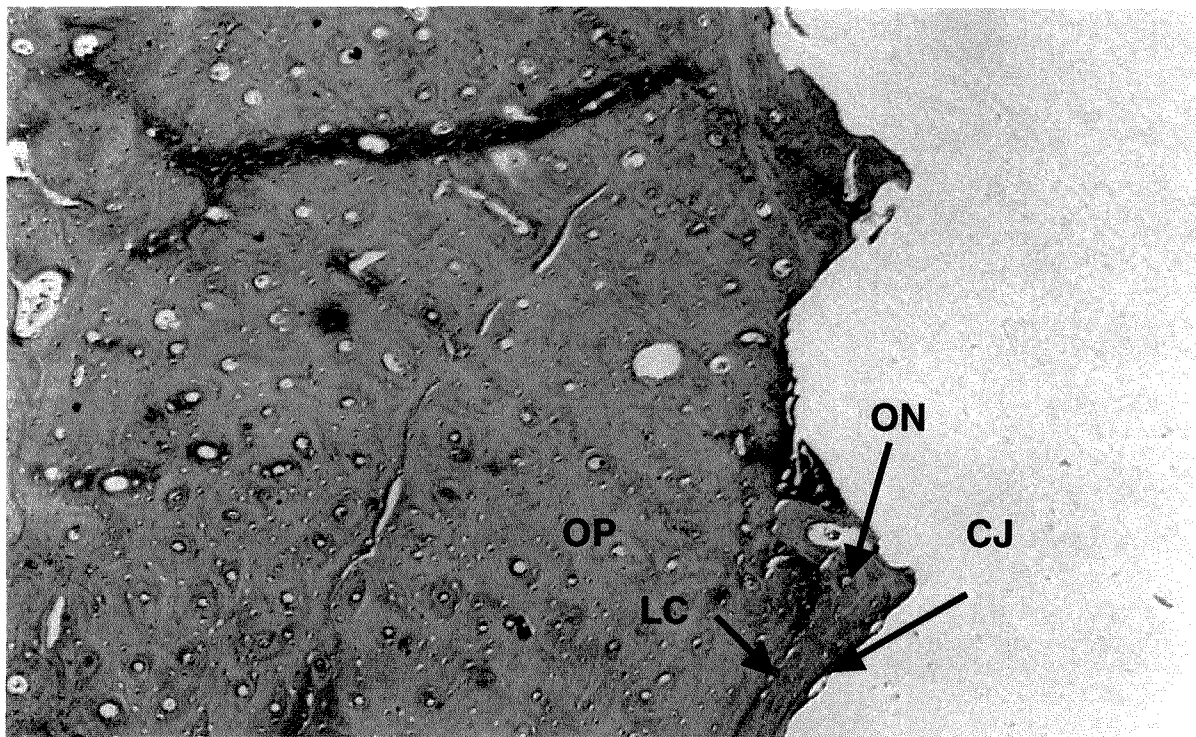


**Figura 24.** Grupo com polímero de mamona, H.E. 200x. Camada de osso cortical (CC), presença de osso neoformado (ON) ocupando o espaço do primeiro sulco do implante; observa-se uma delgada camada de tecido conjuntivo (CJ) na interface osso/implante.

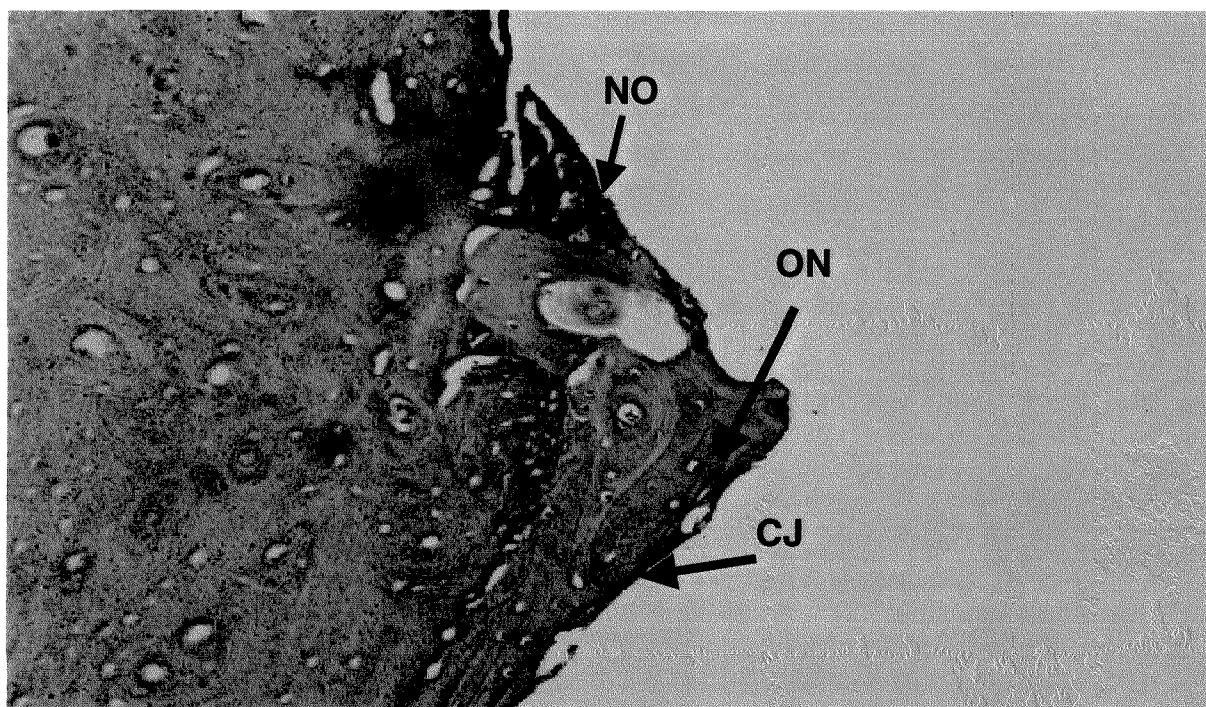


**Figura 25.** Grupo com polímero de mamona, H.E. 400x. Camada de osso cortical (CC), presença de osso neoformado (ON) ocupando o espaço do primeiro sulco do implante; verifica-se tecido conjuntivo (CJ) na interface osso/implante.

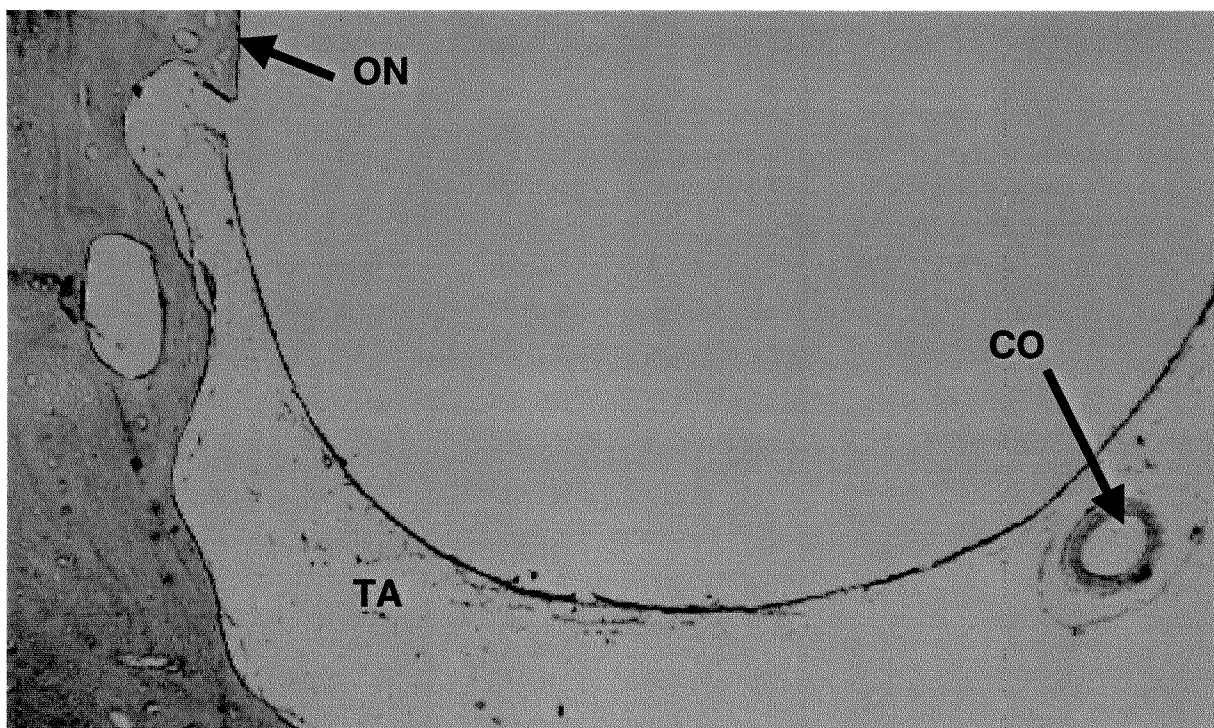




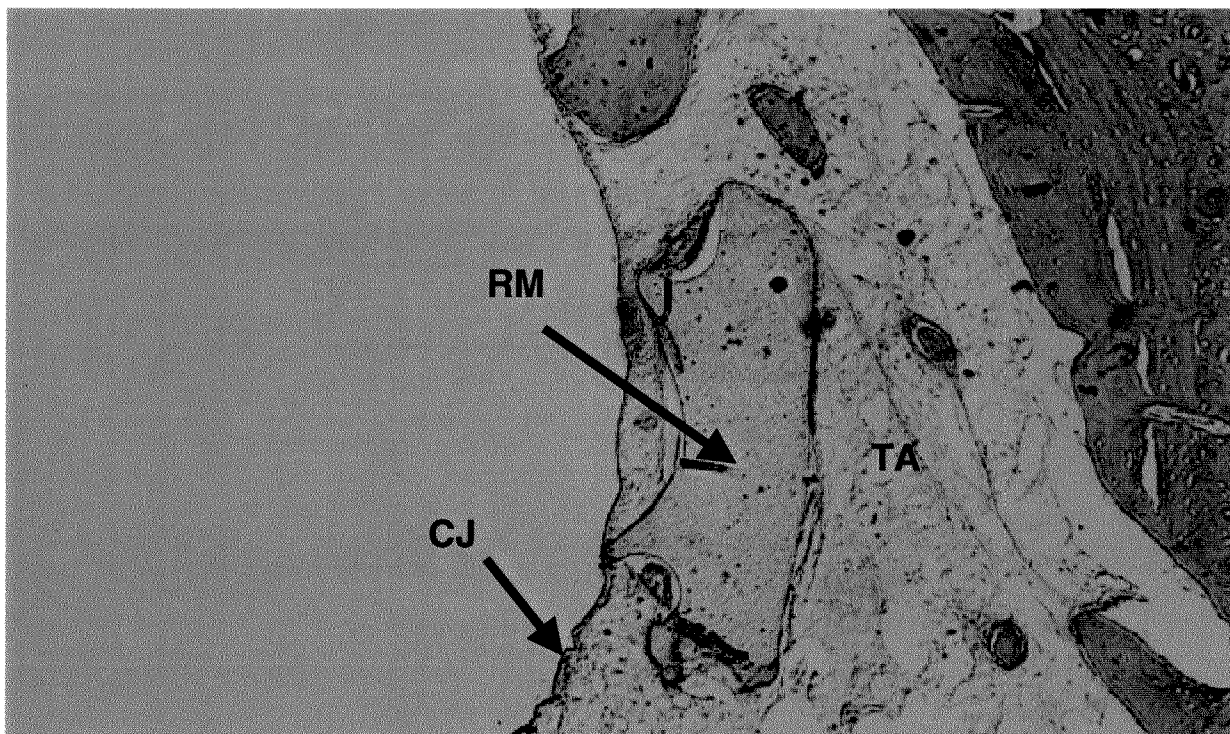
**Figura 26.** Grupo com polímero de mamona, H.E. 200x. Camada endosteal (CE), observa-se osso neoformado (ON) preenchendo os espaços dos segundo e terceiro sulcos do implante; presença de tecido conjuntivo (CJ) na interface osso/implante; verifica-se linha cimentante (LC) separando o osso pré-existente (OP) do osso neoformado (ON).



**Figura 27.** Grupo com polímero de mamona, H.E. 400x. Camada endosteal (CE), observa-se osso neoformado (ON) preenchendo o espaço correspondente a um dos sulcos do implante; presença de tecido conjuntivo (CJ) na interface osso/implante; observa-se linha cimentante (LC) e área de necrose óssea (NE).

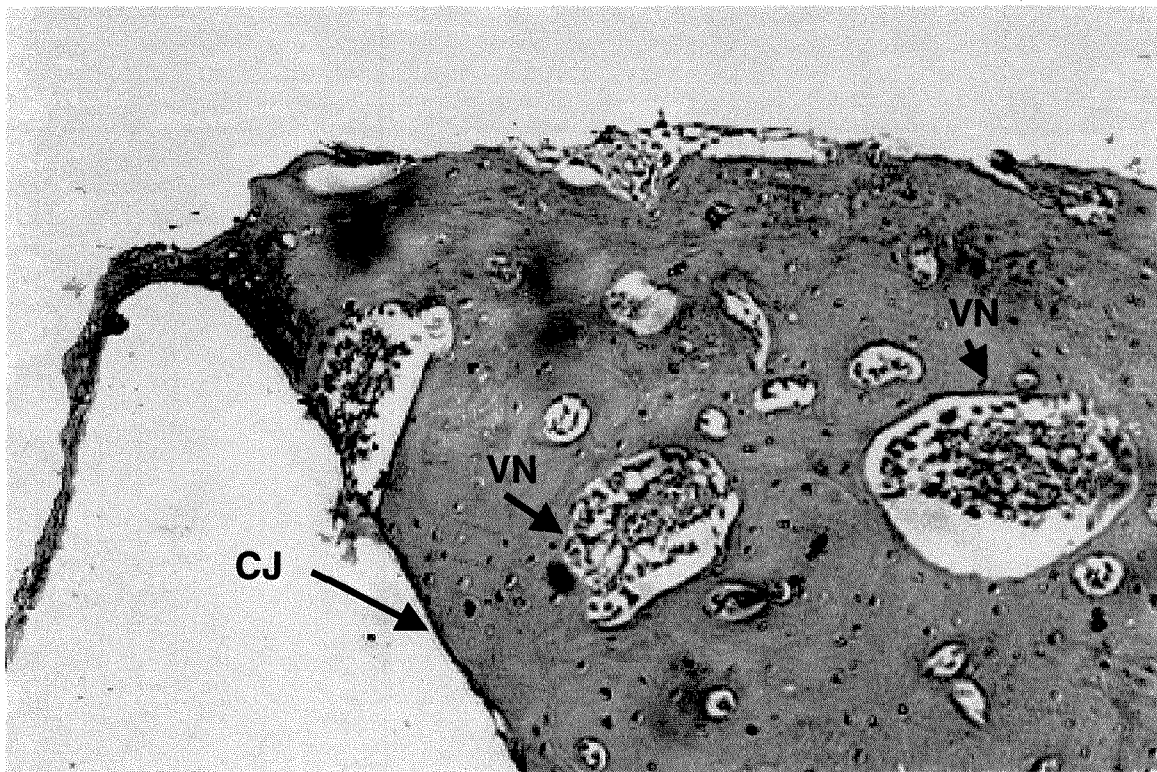


**Figura 28.** Grupo com polímero de mamona, H.E. 200x. Camada medular (CM), pode-se observar tecido adiposo (TA) bastante vascularizado; o tecido ósseo neoformado (ON) apresenta-se com direção de aposição a partir do endóstio para a região apical; presença de centro de ossificação (CO).

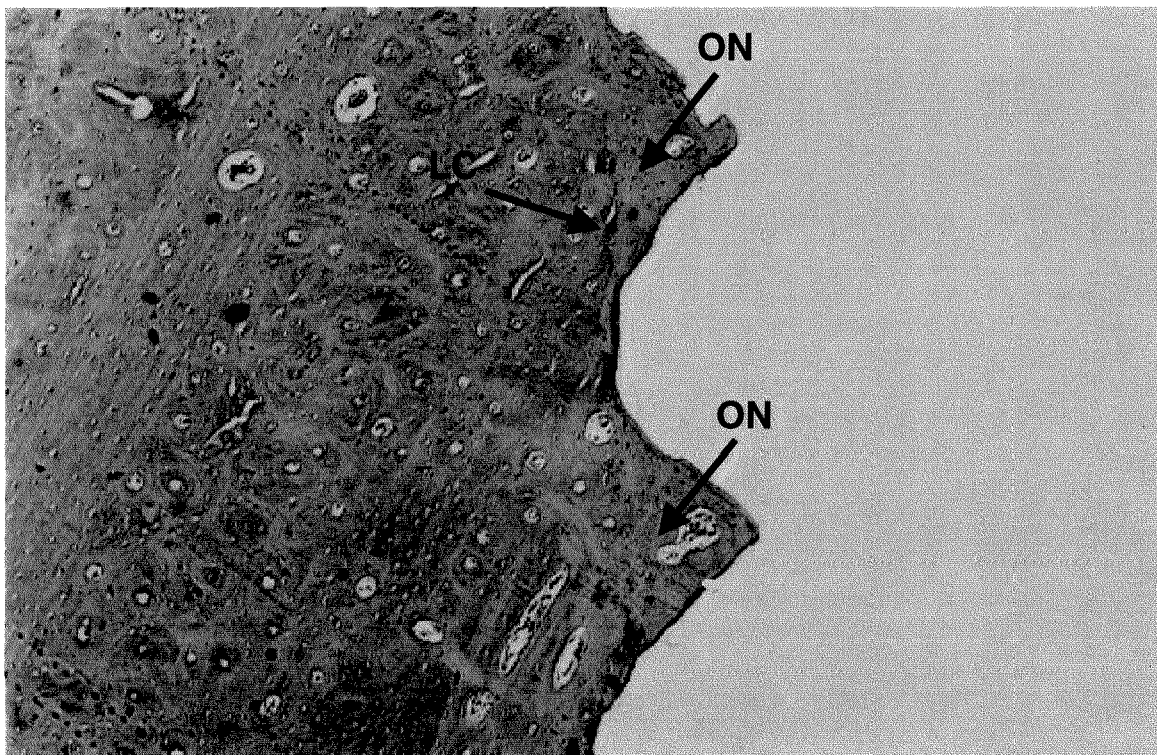


**Figura 29.** Grupo com polímero de mamona, H.E. 400x. Camada medular (CM), presença de tecido adiposo (TA); observa-se remanescente do material (RM) envolvido por tecido conjuntivo, sem sinais de processo inflamatório.

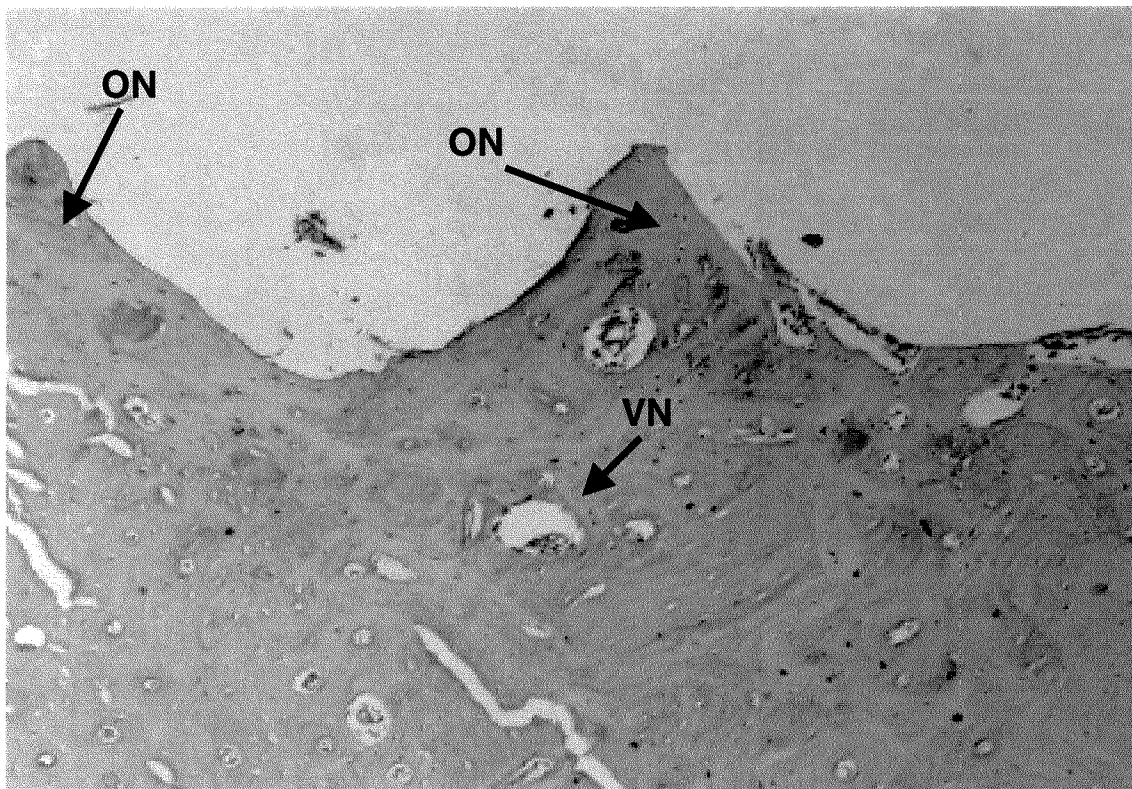




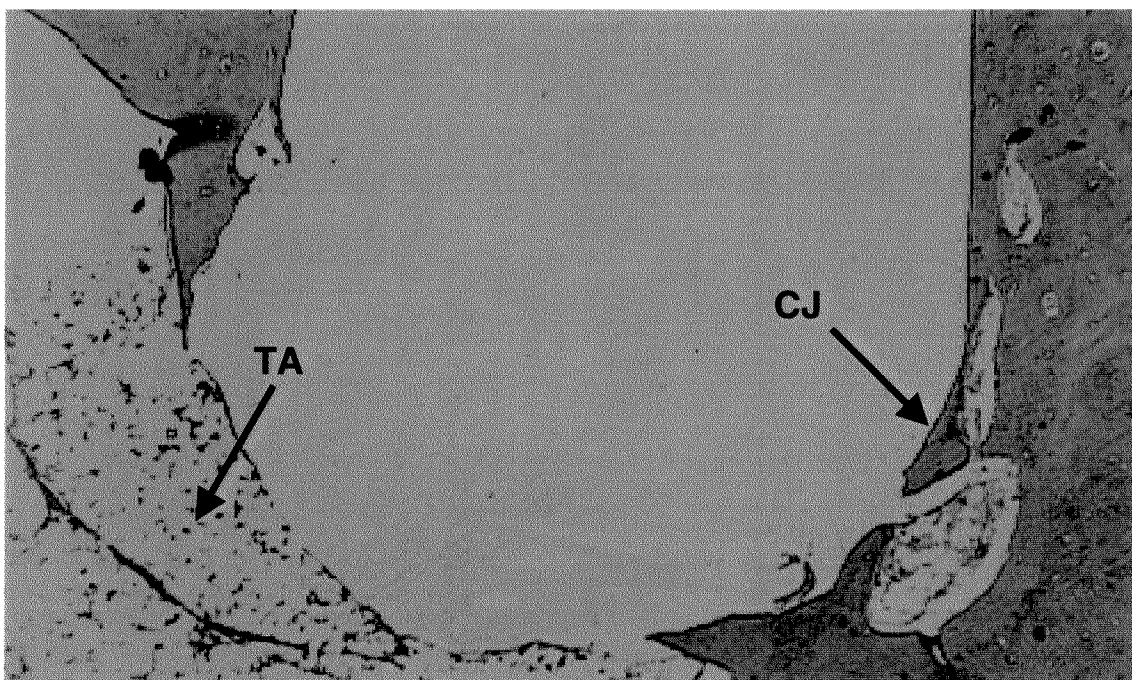
**Figura 30.** Grupo com sulfato de cálcio, H.E. 400x. Camada periosteal (CP), observa-se remodelação óssea superficial; presença de vasos sangüíneos neoformados (VN); Verifica-se tecido conjuntivo (CJ) na interface osso/implante .



**Figura 31.** Grupo com sulfato de cálcio, H.E. 200x. Camada de osso cortical (CC), presença de osso neoformado (ON) ocupando os espaços dos primeiro e segundo sulcos do impalnte; observa-se delgada linha cimentante (LC) entre o osso pré-existente (OP) e o neoformado (ON).



**Figura 32.** Grupo com sulfato de cálcio. H.E. 200x. Camada endosteal (CE), presença de osso neoformado (ON) ocupando os espaços correspondentes aos segundo e terceiro sulcos do implante; vasos neoformados (VN).



**Figura 33.** Grupo com sulfato de cálcio, H.E. 200x. Camada medular (CM), presença de osso neoformado (ON) formando-se do endósteo para apical; observa-se tecido adiposo (TA) na região mais apical do implante, sem sinais de processo inflamatório; presença de tecido conjuntivo (CJ) na interface osso/implante.

## **6. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS**

Há considerável interesse no desenvolvimento de substitutos ósseos para realizar as funções dos enxertos autógenos (BOWERS *et al.*,1991; CONNER *et al.*,1996; LOMANO *et al.*,1997; TAGA *et al.*,1997; PANSEGRAU *et al.*,1998; WHEELLE *et al.*,1998). Embora os enxertos autógenos apresentem os melhores resultados quando se deseja uma regeneração óssea (BLOCK *et al.*,1997), eles possuem algumas desvantagens. A necessidade de um procedimento cirúrgico adicional (FRODEL *et al.*, 1993), de uma quantidade restrita de osso do leito doador, quando utilizado os sítios intrabucais (BLOCK *et al.*,1997) e maior morbidade quando se deseja uma maior quantidade de osso (FRODEL *et al.*, 1993) são algumas das desvantagens da utilização do enxerto ósseo autógeno. Muitos destes materiais têm sido pesquisados com o intuito de se alcançar um substituto ósseo que apresente características semelhantes aos enxerto ósseos (BOWERS *et al.*,1991; CONNER *et al.*,1996; LOMANO *et al.*,1997; TAGA *et al.*,1997; PANSEGRAU *et al.*,1998; WHEELLE *et al.*,1998) .

Os principais materiais substitutos ósseos disponíveis são o osso congelado fresco, congelado seco, desmineralizados e o deproteinado; as

cerâmicas (Hidroxiapatita e Tricálcio fosfato), vidro bioativos, polímeros e o sulfato de cálcio (BUCKLEY, 1998). A pesquisa de alguns destes materiais foi realizada neste estudo, usando-se como modelo animal coelhos da raça Nova Zelândia. Estes animais foram escolhidos em virtude da fácil manipulação e manutenção em cativeiro, não serem agressivos, permitirem fácil aplicação anestésica e por apresentarem quantidade e qualidade óssea adequadas à colocação dos implantes de titânio (osso tipo II), (FRAME, 1980). O local escolhido para a colocação dos implantes foi a tíbia visto que apresenta um acesso fácil e direto, tecido suficiente para o recobrimento dos implantes, apresenta duas corticais e uma medular assemelhando-se a mandíbula.

Muitos fatores envolvidos no processo de reparo ósseo, como a presença de células viáveis, a nutrição adequada dessas células, bem como a ocorrência de um estímulo adequado, são condições essenciais para que ocorra uma apropriada resposta do tecido ósseo. Por isto é necessário o uso de uma técnica cirúrgica baseada em manobras atraumáticas. O procedimento cirúrgico empregado foi baseado em medidas de controle de infecção obedecendo-se normas de biossegurança, uso de irrigação abundante durante as perfurações e utilização de brocas cortantes segundo os relatos de CARVALHO *et al.*, 1994.



O período experimental realizado foi de 12 semanas, onde se pôde observar elevado grau de maturação óssea. Este período também foi utilizado por LINDER *et al.*, 1985 e VIDIGAL Jr., 1997.

Em algumas amostras analisadas foram observadas áreas de osso não vital, que se apresentava como uma estreita faixa basofílica devido à utilização do corante hematoxilina e eosina. Este fato deve ter ocorrido devido ao superaquecimento da broca durante a perfuração, apesar da preocupação com irrigação abundante com solução fisiológica, o que talvez fosse minimizado com a utilização de irrigação interna da broca. Outro fator que pode ter contribuído para esta área de desvitalização óssea foi a utilização das brocas em mais de uma perfuração, fazendo com que os últimos leitos confeccionados apresentassem maior probabilidade de necrose tecidual. Estes achados também foram relatados por GONÇALVES, 1995 e TOREZAN, 1998.

A relação entre o trauma térmico e a hiperpigmentação basofílica apresentada nas margens da perfuração tem sido discutida. COSTICH *et al.* em 1964, comparando dois tipos de velocidades empregadas em

perfurações confeccionadas em mandíbulas de cães, avaliaram com base no grau de pigmentação basofílica, que instrumentos rotatórios sob altas velocidades, em relação às demais utilizadas, e sob irrigação, apresentaram efeito térmico desprezível e mínima pigmentação nas margens do defeito.

Com base nos trabalhos de ADELL *et al.*, 1981, ERIKSON & ADELL, 1986 e SISK *et al.*, 1992, toda a seqüência de eventos necessária ao adequado estabelecimento do processo de reparo, foram criteriosamente seguidas, tendo em vista a utilização de materiais e instrumental previamente esterilizados, uso de brocas cortantes, uso de irrigação contínua com solução fisiológica e o uso de motor com velocidade de perfuração e torque controlados.

No grupo controle, onde o implante foi envolvido apenas por coágulo sangüíneo, a região periostal apresentou remodelação óssea superficial, sendo envolvida por uma fina camada de tecido conjuntivo. Em algumas áreas o osso neoformado apresentava-se bastante celularizado, mostrando um padrão de osso maduro, o que demonstra sinais histológicos de osseointegração comprovando as características de biocompatibilidade do material do implante e a manutenção dos cuidados com a técnica

cirúrgica necessárias para que este fenômeno ocorra. A presença de osso maturo pode ser explicado em função do período de 12 semanas onde se verifica um elevado estágio do processo de reparo.

Na região do periósteo dos demais grupos, também foram observados neoformação óssea em estágio avançado de maturação, com elevado número de osteócitos, vasos sangüíneos neoformados, presença de uma linha cimentante separando o osso pré-existente do osso novo. Na zona de interface do implante com o tecido ósseo foi observado formação de tecido conjuntivo pouco denso, com fibroblastos dispostos regularmente. Este fato sugere não ter havido diferença entre os grupos, ao se avaliar a camada do periósteo, devido ao fato do implante nesta região estar em contato íntimo com o tecido ósseo, em relação às demais regiões analisadas. As observações descritas estão de acordo com os relatos na literatura, onde o íntimo contato do implante com o tecido ósseo ocorre dentro dos padrões de normalidade do processo de reparo, desde que sejam respeitados os cuidados da técnica cirúrgica e pelo fato do titânio ser um material biocompatível (ALBREKTSSON *et al.*,1981; LINDER *et al.*,1985; ALBREKTSSON & JACOBSSON,1987). Este padrão de normalidade do processo de reparo, demonstrando sinais de

osseointegração permite afirmar que nenhum dos materiais substitutos ósseos utilizados nos demais grupos, com exceção do controle, não apresentaram influência negativa no processo de regeneração óssea ao redor dos implantes.

As ligas de titânio e o titânio comercialmente puro são materiais que apresentam alta biocompatibilidade, explicada em função da camada de óxidos formada na superfície do metal ao entrar em contato com o ar. O contato desta superfície irá alterar a camada de óxidos, modificando as características de biocompatibilidade do metal (WILLIAMS,1973).

Na região de osso cortical do grupo controle, houve formação de osso novo ocupando o espaço correspondente ao primeiro sulco em “V” do implante. As áreas de osso neoformado e osso pré-existente, apresentaram-se separadas por uma linha cimentante delgada, nitidamente visível entre os dois tipos de osso. Esta linha existente entre o osso neoformado e pré-existente é compatível com deposição de tecido ósseo num processo de reparo com padrão de normalidade sem interferência do material. Na região de endóstio, estabelecida entre a cortical óssea e a porção medular, observou-se neoformação óssea nas áreas

correspondentes aos segundo e terceiro sulcos do implante. Fragmentos de osso desvitalizado estavam presentes em algumas áreas próximas à zona de interface do implante com o tecido ósseo, sem a presença de processo inflamatório associado. O tecido ósseo neoformado mostrou-se com alto grau de celularidade, caracterizando um tecido com maturação adiantada.

No grupo controle, na região medular, foi observado neoformação óssea na zona de interface do implante com o osso. O tecido adiposo apresentou-se altamente celularizado e vascularizado. Osteoblastos foram observados no interior do osso neoformado, dispostos linearmente, caracterizando-se em processo de maturação. Os resultados observados no grupo controle estão de acordo com trabalhos vistos na literatura (WILLIAMS,1973; ALBREKTSSON *et al.*,1983; LINDER *et al.*, em 1985; CARLSSON *et al.*,1986; LINDER em 1989; ALBREKTSSON & JACOBSSON,1987). O titânio mostrou-se biocompatível, não interferindo no processo de reparo ósseo. A presença da camada de óxidos de titânio na superfície dos implantes impede que haja degradação progressiva do metal, favorecendo o processo de reparo ósseo.

No grupo do osso humano desmineralizado associado ao sulfato de cálcio, foram observados remanescentes do material junto à superfície do osso neoformado e do implante. Tecido conjuntivo foi observado associado à superfície de contato entre o osso e o implante, na região do endóstio.

Na região medular do grupo onde os implantes foram associados ao osso humano desmineralizado e ao sulfato de cálcio, foram vistas algumas ilhas de tecido ósseo envolvidas por intenso infiltrado inflamatório. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por EINHORN *et al.*, 1984 e por SCHWARTZ *et al.*, 1996, onde os remanescentes do osso humano desmineralizado apresentaram-se envolvidos por células do infiltrado inflamatório, sem no entanto haver interferência no processo de reparo ósseo. Os fragmentos de material encontrados em algumas são compatíveis com o osso humano desmineralizado e liofilizado, pois o sulfato de cálcio é reabsorvido em um período médio de 4,7 semanas (SOTTOSANTI, 1995) e, em nosso experimento, o tempo foi de 12 semanas.

A possibilidade de transmissão do vírus imunodeficiência humana, através do osso humano desmineralizado liofilizado é remota. BUCK *et al.*, 1989 afirmaram que o risco de transmissão do HIV é de 1 caso em cada grupo 161 vezes que o material for utilizado, sendo necessário o uso de medidas preventivas através de teste sorológicos realizados nas amostras. Estas afirmações estão de acordo com os trabalhos de BUCK *et al.*, 1989 e CARLSON *et al.*, 1994, onde são os autores apresentaram a possibilidade de infecção pelo HIV em amostras de osso humano desmineralizado em função do vírus apresentar-se ativo após o congelamento, no entanto não se pôde afirmar se o emprego de outros procedimentos utilizados no processo de preparo do enxerto mantenha este mínimo potencial de infecção.

A utilização do osso humano desmineralizado oferece riscos semelhantes aos da transmissão de doenças infecto-contagiosas que são encontrados em outros tipos de enxertos, uma vez que geralmente são os mesmos bancos de tecidos que oferecem os diversos tipos de materiais para transplantes. Os cuidados realizados pelos laboratórios estão relacionados tanto à manutenção da cadeia asséptica dos materiais

descartáveis, quanto à seleção dos indivíduos doadores e dos teste imunológicos pertinentes.

No grupo onde foi usado o polímero de mamona (*Ricinus communis*), a região endosteal apresentou remodelação da superfície óssea, com vasos sanguíneos neoformados, e o tecido ósseo neoformado mostrou-se com alto grau de celularidade. Na região de osso cortical, o novo osso mostrou-se com espaços lacunares maiores, com uma linha cimentante separando-o do osso antigo. Uma fina camada de tecido conjuntivo foi visto nas áreas de interface do implante com o tecido ósseo. Na região mais apical do leito do implante pôde-se observar ilhas de ossificação com alto grau de neovascularização. Neste grupo, na região medular, o tecido ósseo neoformado apresentava direção de aposição a partir do endóstio para a porção apical. Remanescentes do material envolvido por tecido conjuntivo foi observado na porção mais apical da região medular, sem evidências de células do processo inflamatório associado. Estes achados estão de acordo com os obtidos por OHARA *et al.*, 1995 onde os autores avaliaram a biocompatibilidade do polímero de mamona implantada em coelhos. Resultados semelhantes também foram obtidos por CARVALHO *et al.*, 1997 e HELENCAR *et al.*, 1997.



## **7. CONCLUSÕES**

Com base na metodologia empregada e nos resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que:

1. Em todos os grupos houve reparo ósseo, histologicamente compatível com o processo de regeneração óssea em coelhos.
2. Histologicamente, não houve diferença entre o grupo controle e os demais grupos.
3. Os materiais analisados não interferiram no processo de reparo ósseo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS<sup>\*</sup>

1. ADELL, R.; LEKHOLM, U.; ROCKLER, B.; BRÅNEMARK, P.I, LINDHE, J.; *et al.* Marginal tissue reactions at osseointegrated titanium fixtures (I). A 3-year longitudinal prospective study. **Int J Oral Maxillofac Surg**, Copenhagen, **15**: 39-52, 1986.
2. ADELL, R.; LEKHOLM, U.; ROCKLER, B.; BRÅNEMARK, P.I. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentul jaw. **Int J Oral Surg**, Copenhagen, **10**: 387-416, 1981.
3. ALBREKTSSON, T. A multicenter report on osseointegrated oral implants. **J Prosthet Dent**, Saint Louis, **60**: 75-84, 1988.
4. \_\_\_\_\_. State of the art in oral implants. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, **18**: 474-80, 1991.
5. \_\_\_\_\_. & JACOBSSON, M. Bone-metal interface in osseointegration. **J Prosthet Dent**, Saint Louis, **57**: 597-607, 1987.
6. \_\_\_\_\_.; BRANEMARK, P-I.; HANSSON, H-A.; LINDSTRÖM, J. Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. **Acta Orthop Scand**, Copenhagen, **52**: 155-70, 1981.

---

<sup>\*</sup> De acordo com a NB-66, de 1978, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).  
Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

7. ALBREKTSSON, T.; ZARB, G.; WORTHINGTON, P.; ERIKSSON, A.R. The long-term efficacy of currently used dental implants: a review and proposed criteria of sucess. **Int J Oral Maxillofac Implants**, Lombard, **1**: 11-25, 1986.
8. \_\_\_\_\_. *et al.* The Interface zone of inorganic implants in vivo: titanium implants in bone. **Ann Biomed Eng**, New York, **11**: 1-27, 1983.
9. ALPER, G.; BERNIK, S; YAZDI M. Osteogenesis in bone defects in rats: the effects of hydroxapatite and demineralized bone matrix. **Am J Med Sci**, Philadelphia, **298**: 371-6, 1989.
10. BAIER, R.E.; MEENAGHAN, M. A.; HARTMAN, L.C.; WIRTH, J. E.; FLYNN, H. E. *et al.* Implant surface characteristics and tissue interaction. **J Oral Implantol**, Abinton, **8**: 494-604, Apr.1988.
11. \_\_\_\_\_. *et al.* Surface properties determine bioadhesive outcomes: methodes and results. **J Biomed Mater Res**, New York, **18**: 327-55, 1984.
12. BECKER, W.; BECKER, B.E.; McGUIRE, M.K. Localized ridge augmentation using absorbable pins and e-PTFE barries membranes: a new surgical tchnique. Case reports. **Int J Periodontics Restorative Dent**, Chicago, **14**: 49-61, Feb. 1994.
- 13 BLOCK, M.S. & KENT, J.N. Sinus aumentation dental implants: the use of autogenous bone. **J Oral Maxillofac Surg**, Orlando, **55**: 1281-6, 1997.

14. BOWERS, G.; FELTON, F.; MIDDLETON, C.; GLYNN, D.; SHARP, S. *et al.* Histologic comparison of regeneration in human intrabony defects when osteogenin is combined with demineralized freeze-dried bone allograft and with purified bovine collagen. **J Periodontol**, Chicago, **62**: 690-702, 1991.
15. BOWERS, K.T. *et al.* Optimization of surface micromorphology for enhanced osteoblast responses *in vitro*. **Int J Oral Maxillofac Implants**, Lombard, **7**: 302-10, 1992.
16. BOYNE, P.J. **Osseous reconstruction of the maxilla and mandible – surgical techniques using titanium mesh and bone mineral**. Chicago, Quintessence, 1997 p.3-21.
17. BRÅNEMARK, P-I. Introduction to osseointegration. *In*: BRÅNEMARK, P-I.; ZARB, G.; ALBREKSSON, T. **Tissue integrated prostheses. Osseointegration in clinical dentistry**. Chicago, Quintessence, 1985. p.1-6
18. \_\_\_\_\_. *et al.* Osseointegrated dental implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10 year period. **Scand J Plast Reconstr Surg Suppl**, **16**: 1-132, 1977. *Apud* GONÇALVES, J.R. *Op. Cit.* Ref.35.
19. BUCK, B.E.; RESNIK, L.; SHAH, S.M.; MALINI, T.I. Human immunodeficiency virus cultured from bone – implications for transplantation. **Clin Orthop Rel Res**, Philadelphia, **251**: 248-53, Feb. 1989.

20. BUCLEY, M.S. Bone substitutes. *In: SELECT readings in oral and maxillofacial surgery*. Texas, **4**(2): 1-21, 1998.
21. BUDD, T.W.; BIELAT, K.L.; MEENGHAN, M.A.; SCHAAFT, N.G. Microscopic observations of the bone/implant interface of surface-treated titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*, Lombard, **6**: 253-258, 1991.
22. BUSER, D.; DULA, K.; HIRT, H.P.; SCHENK, R.K. Lateral ridge augmentation using autografts and barrier membranes: a clinical study with 40 partially edentulous patients. *J Oral Maxillofac Surg*, Orlando, **54**: 420-32, 1996.
23. CARLSON, R.E.; MARX, E.R.; BUCK, B.E. The potencial for HIV transmission through allogeneic bone – a review of risks and safety. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, Saint Louis, **80**: 17-23, 1994.
24. CARLSSON, L. RÖSTLUND, T.; ALBREKTSSON, T.; BRÅNEMARK, P-I. Osseointegration of titanium implants. *Acta Orthop Scand*, Copenhagen, **57**: 285-9, 1986.
25. CARVALHO, P.S.P.; ROSSI JR, R.; SANCHES, M.G.; JAEF, S.B. Ação das brocas para implantes com e sem irrigação externa. *RGO*, Porto Alegre, **42**: 171-3, 1994.
26. CONNER, D.H. Bone grafting with a calcium sulfate barriers after roof amputation. *Compend Contin Educ Dent*, Newtown, **17**(1): 42-6, 1996.

27. COOK, S.D. & DALTON, J.E. Biocompatibility and biofuncionality of implanted materials. **Alpha Omegan**, Philadelphia, **19**: 123-35, 1992.
28. COSTA, C.A.S.; MARCANTONIO, R. A. C.; HEBLING, J; TEIXEIRA, H. M.; KURAME, M. Biocompatibilidade do polímero de poliuretana de mamona em estudo comparativo com cimento de óxido de zinco e eugenol. Avaliação histopatológica de implantes subcutâneos de ratos. **Odonto** **2000**, (1): 44-8,1997.
29. COSTICH, E.R.; YOUNGBLOOD, P.J.; WALDEN, J.M. A study of the effects of high-speed rotaty instruments on bone repair in dogs. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, **17**: 563-71, 1964.
30. DOUNDOULAKIS, J.H. Surface analysis of titanium after sterilization: role in implant-tissue interface and biodhesion. **J Prosthet Dent**, Saint Louis, **58**(4): 471-8, Oct. 1987.
31. ELLIS III, E. Biology of bone grafting: an overview. **Select Reading Oral and Maxillofac Surg**, n.2, p.1, 1992.
32. ERIKSSON, R.A. & ALBREKTSSON, T. Temperature threshold levels for heat-induced bone tissue injury: a vital-microscopic study in the rabbit. **J Prosthet Dent**, Saint Louis, **50**: 101-7,1983.
33. \_\_\_\_\_. & ADELL, R. Temperatures during drilling for the palcement of implants using the osseointegration technique. **J Oral Maxillofac Surg**, Orlando, **44**: 4-7, 1986.

34. FRAME, J.W. A convenient animal model for testing bone substitute materials. **J Oral Maxillofac Surg**, Orlando, **38**: 176-80, Mar. 1980.
35. FRODEL JR, J.L. *et al.* Calvarial bone graft Harvest – techniques, considerations, and morbidity. **Arch Otolaryngol Head Neck Surg**, Chicago, **119**: 17-23, 1993.
36. FROUM, S.J.; WEINBERG, M.A.; TARNOW, D. Comparison of bioactive glass synthetic bone graft particles and open debridement in the treatment of human periodontal defects. A clinical study. **J Periodontol**, Chicago, **69**: 698-709, 1998.
37. GONÇALVES, J.R. **Efeito do ultra-som no processo de reparo ósseo após implantação de parafusos de titânio em coelhos. Análise histológica e biomecânica.** Araçatuba, 1994. [Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho].
38. GOLDBERG, V.M. & STEVENSON, S. Natural history and allografts. **Clin Orthop Rel Res**, Philadelphia, (225), Dec.1987.
39. HOBKIRK, J.A. & WATSON, R.M. Princípios de osseointegração. *In*: **ATLAS colorido e texto de implantologia dental e maxilofacial.** São Paulo, Artes Médicas Ltda, 1996. p.9-19.
40. HOTZ, G. & HERR, G. Bone substitute with osteoinductive biomaterials current and future clinical applications. **Int J Oral Maxillofac Surg**, Copenhagen, **23**: 413-7, 1994.

41. IGNÁCIO, H. *et al.* Uso da poliuretana derivada do óleo de mamona para preencher defeitos ósseos diafisários segmentares do rádio. Estudo experimental em coelhos. **Rev Bras Ortop**, São Paulo, **32**: 815-22,1997.
42. JOHANSSON, C.; SENNERBY, L.; ALBREKTSSON, T. A removal torque and histomorphometric study of bone tissue reactions to commercially pure titanium and vitallium® implants. **Int J Oral Maxillofac Implants**, Lombard, **6**: 437-41, 1991.
43. KASEMO, B. Biocompatibility of titanium implants: surface science aspects. **J Prosthet Dent**, Saint Louis, **49**: 832-7, 1983.
44. KOHN, D.H. Overview of factors important desing. **Oral Implantol**, Abinton, **18**: 204-19,1992.
45. LINDER, L. ALBREKTSSON, T.; BRÅNEMARK P-I.; HANSSON, H-A.; IVARSSON, B.; JÖNSSON, V.; LUDSTRÖM, I.: Electron microscopic analysis of the bone titanium interface. **Acta Orthop Scand**, Copenhagen, **54**:45-52, 1983.
46. LINDER L: High-resolution microscopy of the implant-tissue interface. **Acta Orthop Scand**, Copenhagen, 56:269-272, 1985.
47. LINDER, L. Osseointegration of metallic implants. **Acta Orthop Scand**, Copenhagen, **60**: 129-34, Feb. 1989.
48. LAMANO CARVALHO, T.L.; DE ALBUQUERQUE ARAÚJO, J. M.; TEÓFILO, L . G. Histologic and histometric evaluation of rat alveolar wound healing polyurethane resin implants. **Int J Oral Maxillofac Surg**, Copenhagen, **26**: 149-51, 1997.



49. LOW, S. B.; KING J. C.; KREIGER, J. An evaluation of bioactive ceramic in the treatment of periodontal osseous defects. **Int J Periodontics Restorative Dent**, Carol Stream, **17**: 359-67, 1997.
50. MARINAK, K.W.; MELLONING, J.T.; TOWLE, H.J. The Osteogenic potencial of two human demineralized bone preparation using a xenogeneic model. **J Periodontol**, Chicago, **60** (1): 12-8, 1989.
51. MASSONE, F. **Anestesiologia veterinária. Farmacologia e técnicas**. 2.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1994. p.105-10.
52. MEFFERT, R.M.; LANGER, B.; FRITZ, M.E. Dental implants: a review. **J Periodontol**, Chicago, **63**: 859-70, 1992.
53. MORSE, A. Formic acid-sodium citrate decalcification and butyl alcohol dehydration of theef and bones for sectionning in paraffin. **J Dent Res**, Washington, **24**: 143-53, 1945.
54. NEWMAN, H.N. *et al*. Particulate bioglass as a grafting material in the treatment of periodontal intrabony defects. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, **24**: 410-8, 1997.
55. OHARA, G.H. *et al*. Estudo da biocompatibilidade do polímero poliuretano da mamona implantada intra-óssea e intra-articular em coelhos. **Acta Ortop Bras**, **3**: 62-8, 1995.
56. OONISH, H. KUSHITANI, S.; YASUKAWA, E.; IWAKI, H.; HENCH, L. L. *et al* . Particulat bioglass compared with hydroxyapatite as a bone graft substitute. **Clin Orthop Rel Res**, Philadelphia, **334**: 316-25, 1997.

57. PANSEGRAU, K.J.; FRIDRICB, K. L.; LEW, D.; KELLER, J.C. A comparative study of osseointegration of titanium implants in autogenous and freeze-dried bone grafts. **J Oral Maxillofac Surg**, Orlando, **56**: 1067-74, 1998.
58. RABIE, A.B.M. & LIE KEN JIE, R.K.P. Integration of endochondral bone grafts in the presence of demineralized bone matrix. **Int J Oral Maxillofac Surg**, Copenhagen, **25**: 311-8, 1996.
59. REDONDO, A.L.M.; HERNÁNDEZ, J. M.; CANTERA, G.; NIETO, T.; PUERTA, C. V. Repair of experimentel mandibular defects in rats with autogenous, demineralised, frozen and fresh bone. **Br J Maxillofac Surg**, Edinburgh, **35**: 166-9, 1997.
60. RICCI, J.L.; BLUMENTHAL, N.C.; SPIVAK, J.M.; ALEXANDER, H. Evaluation of a low-temperature calcium phosphate particulate implant material: phisical-chemical properties and in vivo bone response. **J Oral Maxillofac Surg**, Orlando, **50**: 969-78, 1992.
61. SATOMI, K.; AKAGAWA, Y.; NIKAI, T.; SURU, H. Bone – implants interface structures after non tapping insertion of screw-type titanium alloy endosseous implants. **J Prosthet Dent**, Saint Louis, **59**: 339-42, 1988.
62. SCHEPERS, E.; DE CLERCQ, M.; DUCHEYNE, P.; KEMPENEERS, R. Bioactive glass particulate material as a filler for bone lesions. **J Oral Rahabil**, Oxford, **18**: 439-52, 1991.

63. SCHWARTZ, Z.; MELLONIG, J. T.; CARNES, Jr., D. L.; De La FONTAINE.; COCHRAN, D. L., *et al.* Ability of commercial demineralized freeze-dried bone allograft to induce new bone formation. **J Periodontol**, Chicago, **67**: 918-26, 1996.
64. SISK, A.L.; STEFLIK, D.E.; PARR, G.R.; HANES, P.J. A light and electron microscopic comparison of osseointegration of six implants types. **J Oral Maxillofac Surg**, Orlando, **50**: 709-16, 1992.
65. SMITH, D.C.; PILLAR, R.M.; CHERNECKY, R. Dental implant materials. I. some effects of preparative procedures on surface topography. **J Biomed Mater Res**, New York, **25**: 1045-67, 1991.
66. SOTTOSANTI, J. S. Calcium sulfate-aided bone regeneration: a case report. **Period Clin Invest**, Califórnia, **17**:10-15, 1995
67. TAGA, R.; CESTARI, T. M.; SILVA, T. L.; STIPP, A. C. M. Reparo de defeito ósseo perene em crânio de cobaia pela aplicação de osseobond. **Rev Bras Implantod**, Rio de Janeiro, p.13-20, jan./fev. 1997.
68. TAIRA, M.; MOSER, J.B.; GREENER, E.H. Studies of Ti alloys for dental castings. **Dent Mater**, Chicago. **5**: 45-50, Jan. 1989.
69. THOMAS, K.A. & COOK, S.D. An evaluation of variables influencing implant fixation by direct bone apposition. **J Biomed Mater Res**, New York, **19**: 875-901, 1985.

70. TOREZAN, J.F.R. **Estudo comparativo entre dois tipos de superfícies de implantes cilíndricos de titânio. Análise histológica e biomecânica em tíbias de coelhos.** Piracicaba, 1998. 145p. [Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas].
71. VIDIGAL JR, G.M. & GROISMAN, M. Osseointegração x biossegurança: uma análise crítica. **Rev Bras Odontol**, Rio de Janeiro, **54**(4): 218-24, 1997.
72. WHEELER, K.; STOKES, K. E.; HOELLRICG, R. G.; CHAMBERLAND, D. L.; McLOUGHLIN, S. W. Effect of bioactive glass particle size on cancellous defects. **J Biomed Mater Res**, New York, **41**: 527-33, 1998.
73. WILLIAMS, D.F. The deterioration of materials in use. *In*: WILLIAMS, D.F. (Ed) **Implants in surgery**. London, W.B. Saunders, 1973. *Apud* ILG, J.P. **Avaliação histológica e tíbias de coelhos de parafusos de titânio utilizados em fixação interna rígida.** Piracicaba, 1996. 99p. [Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas].
74. ZARB, G.A. & ALBREKTSSON, T. Osseointegration: a requiem for the periodontal ligament? **Int J Periodontics Restorative Dent**, Carol Stream, **11**: 88-91, 1991.
75. WORTHINGTON P.: Introdução. *In*: Worthington P., Lang B.R., Lavelle W.E.: **Osseointegração na Odontologia** (ed 1) São Paulo, Quintessence, 1994 p.11-18.


Comissão de Ética na Experimentação Animal  
Instituto de Biologia  
Universidade Estadual de Campinas  
CEEA-IB-UNICAMP

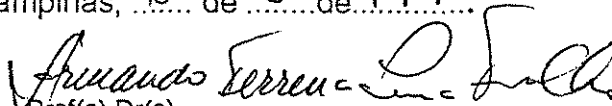
CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 075-1, sobre "Efeito de diferentes tipos de enxertos sobre a oxo-integrase de implantes endossus - Avaliação histomorfométrica em fêmur de coelho", sob a responsabilidade de ROGER WILLIAM FERNANDES MOREIRA está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA)-IB-UNICAMP em reunião de 06/08/1999. Este certificado expira em 05/08/2000.

CERTIFICATE

We certify that the protocol nº ....., about ".....", agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Brazilian College of Animal Experimentation (COBEA) and was approved by the Biological Institute/UNICAMP Ethical Committee for Animal Research (CEEA) in ...../...../..... Expiration date ...../...../.....

  
Albano M. Souza Berto  
Prof(a) Dr(a)  
Presidente - CEEA/IB/UNICAMP

Campinas, 6 de 8 de 1999  
  
Prof(a) Dr(a)  
Secretário(a) - CEEA/IB/UNICAMP